

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Davi Siqueira da Silva de Souza

**INFLUÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE NA AUTOAGREGAÇÃO
DE SAIS DE BILE**

Sorocaba

2024

Davi Siqueira da Silva de Souza

**INFLUÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE NA AUTOAGREGAÇÃO
DE SAIS DE BILE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais. Área de concentração: Nanociência e Nanotecnologia de Materiais.

Orientação: Prof.^a Dr.^a Kelly Roberta Francisco Muruci de Paula

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Sorocaba

2024

Souza, Davi Siqueira da Silva de

Influência de nanopartículas de celulose na autoagregação de sais de bile / Davi Siqueira da Silva de Souza -- 2024.
114f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Kelly Roberta Francisco Muruci de Paula
Banca Examinadora: Bruno Campos Janegitz, Lucimara Lopes da Silva
Bibliografia

1. Autoagregação de biossurfactantes. 2. Nanocelulose.
3. Reologia. I. Souza, Davi Siqueira da Silva de. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Davi Siqueira da Silva de Souza, realizada em 05/02/2024.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Kelly Roberta Francisco Muruci de Paula (UFSCar)

Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz (UFSCar)

Profa. Dra. Lucimara Lopes da Silva (UTFPR)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais.

Dedico esse trabalho a minha mãe Elizabeth e ao meu pai Demétrius, base da minha formação e apoio. Sem vocês eu não me tornaria quem sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em especial, a minha mãe, Elizabeth, e ao meu pai, Demétrius, por todo amor, carinho, atenção, dedicação e por nunca terem medido esforços para que a mim fossem proporcionadas as melhores condições possíveis de estudo e qualidade de vida. A minhas avós, Valderes e Vera, pelo amor, cuidado e por terem sido essenciais em minha educação e desenvolvimento como pessoa. A minha tia Adriana, por sempre ter me orientado, incentivado e confiado em minhas decisões, assim como as minhas tias, tios e primos que me apoiaram. Sou grato por tudo. Amo vocês!

Aos meus queridos amigos, em especial à Ariela, Lívia, Nicole, Aniele, Felipe e Ian, pela presença, por terem acreditado em meu potencial e pelos momentos de descontração e alegria tão importantes durante minha jornada acadêmica. Obrigado por terem ouvido meus desabafos, reclamações e por sempre me instruírem a tomar as melhores decisões, vocês são incríveis e essenciais em minha vida!

Agradeço, imensamente, à Prof.^a Dr.^a Kelly Roberta Francisco, minha Orientadora, por toda atenção, cuidado, paciência, tempo dedicados para o desenvolvimento de meus trabalhos e a todo o conhecimento e sabedoria compartilhados. Seus ensinamentos foram e são primordiais para o meu desenvolvimento como pesquisador. Levarei sempre seu exemplo para que eu possa ser um profissional cada vez melhor! Sou extremamente grato por tudo!

Aos queridos membros do Laboratório de Estruturas Supramoleculares e Superfícies (LabES²), Vinícius, Brenda, Giovana e Júlia - família LabES² - pelo compartilhamento de ideias, suporte na execução de experimentos, colaboração na escrita de artigos, fofocas, risadas, ensinamentos e, principalmente, apoio durante o desenvolvimento do mestrado. Vocês são muito especiais e sem dúvidas, incríveis! O mundo é pequeno para vocês e para o LabES², ainda temos muito por vir! Obrigado, de verdade!

À Prof.^a Dr.^a Camila A. Rezende (IQ/UNICAMP) pela parceria e fornecimento das nanoceluloses, ao Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (IQ/UNICAMP) pela disponibilização do reômetro e ao Prof. Dr. Cristiano L. P. Oliveira (IF/USP) pela colaboração através das medidas de SAXS.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM-So/UFSCar) pelas disciplinas, estrutura e docentes excepcionais para minha formação. Ao Centro de Ciências Agrárias (CCA/UFSCar) pela estrutura e verba, essenciais para o desenvolvimento da pesquisa.

Esta pesquisa utilizou instalações do Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), uma Organização Social supervisionada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). A equipe da instalação BFM é reconhecida pela assistência durante os experimentos (números das propostas).

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

Por fim, meu muito obrigado a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução desse trabalho.

“The eternal mystery of the world is its comprehensibility... The fact that it is comprehensible is a miracle.”

(Albert Einstein, 1936)

RESUMO

SOUZA, Davi Siqueira da Silva de. **Influência de Nanopartículas de Celulose na Autoagregação de Sais de Bile**. 2024. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2024.

Autoagregados de surfactantes podem exibir pronunciada viscoelasticidade a qual pode ser modulada conforme a adição de diferentes moléculas no meio em que estão inseridos. Neste trabalho, o efeito da adição de nanocristais de celulose (CNCs) ou nanofibrilas de celulose (CNFs), sintetizados por hidrólise ácida com ácido sulfúrico e oxidação mediada por TEMPO, respectivamente, foi estudado sobre autoagregados dos sais de bile deoxicolato de sódio (NaDC) e/ou taurodeoxicolato de sódio (NaTDC) em meio aquoso, em diferentes proporções de surfactante/nanocelulose. O tamanho dos agregados de NaTDC/nanocelulose aumentou com a adição de nanocelulose e foram maiores que as amostras de NaDC/nanocelulose e NaDC/NaTDC/nanocelulose, respectivamente. Dados de potencial zeta (PZ) indicaram aumento na estabilidade coloidal com o incremento de nanocelulose. Amostras contendo CNFs foram mais estáveis e os sistemas binários de sais de bile em quantidade equimolar (50 mM) com CNCs ou CNFs foram mais estáveis do que aqueles contendo um único sal de bile. O comportamento não-Newtoniano dos fluidos foi observado, uma vez que os sistemas apresentaram os fenômenos de *shear thinning* e/ou *shear thickening*. Ensaios dinâmicos de frequência mostraram sistemas mais viscoelásticos e comportamento de géis àqueles contendo CNFs. Agregados da amostra equimolar de NaDC/NaTDC contendo CNF a $4,80 \text{ g L}^{-1}$ estão mais entrelaçados, uma vez que têm maior valor de módulo de elasticidade no platô, G_0 , (2011 Pas) sendo cerca de 10 (210,1 Pas) e 90 (22,58 Pas) vezes superior do que G_0 dos sistemas análogos de NaDC/CNF e NaTDC/CNF, respectivamente. Curvas de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) mostraram a formação de cilindros mais alongados para agregados contendo CNFs e mais curtos para aqueles contendo CNCs. Agregados de NaTDC/CNF são os mais curtos e os agregados NaDC/NaTDC/CNF são os mais longos. Agregados cilíndricos mais alongados favorecem o emaranhamento entre agregados e a formação de géis mais fortes, e as interações intermoleculares desempenharam um papel importante nisso. Portanto, esses novos materiais fazem parte de um contexto atual de desenvolvimento de sistemas voltados para aplicação como modificadores reológicos para uso em tintas e encapsulamento/liberação controlada de moléculas de interesse, importantes para as indústrias cosmética e farmacêutica.

Palavras-chave: biossurfactantes, nanocristais de celulose, nanofibrilas de celulose, reologia, estruturação.

ABSTRACT

SOUZA, Davi Siqueira da Silva de. **Influence of Cellulose Nanoparticles on Bile Salts Self-Aggregation**. 2024. Master in Material Science – Federal University of Sao Carlos, Sorocaba, 2024.

Surfactant self-aggregates can exhibit pronounced viscoelasticity, which can be modulated according to the addition of different molecules to the medium in which they are inserted. In this work, the effect of adding cellulose nanocrystals (CNCs) or cellulose nanofibrils (CNFs), synthesized by acid hydrolysis with sulfuric acid and TEMPO-mediated oxidation, respectively, was studied on self-aggregates of sodium deoxycholate (NaDC) and/or sodium taurodeoxycholate (NaTDC) in aqueous medium, in different proportions of surfactant/nanocellulose. The size of NaTDC/nanocellulose aggregates increased with nanocellulose addition and were larger than NaDC/nanocellulose and NaDC/NaTDC/nanocellulose samples, respectively. Zeta potential (ZP) data indicated the colloidal stability increased with nanocellulose concentration increasing. Samples containing CNFs were more stable and binary equimolar (50 mM) bile salt systems with CNCs or CNFs was more stable than the ones containing a unique bile salt. The non-Newtonian behavior of fluids was observed since systems presented shear thinning and/or shear thickening phenomena. The dynamic frequency assay demonstrated more viscoelastic systems and a gel-like behavior for the ones containing CNFs. Aggregates of the equimolar NaDC/NaTDC sample with 4.80 g L^{-1} CNF have more entanglements, since they have a higher elastic modulus value on the plateau, G_0 , (2011 Pas) being around 10 (210.1 Pas) and 90 (22.58 Pas) times higher than G_0 of the analogous systems of NaDC/CNF and NaTDC/CNF, respectively. Small-angle X-ray scattering (SAXS) curves showed the formation of more elongated cylinders for aggregates containing CNFs and shorter ones for those containing CNCs. NaTDC/CNF aggregates are the shortest and the NaDC/NaTDC/CNF aggregates are the longest. More elongated cylindrical aggregates favor entanglements between aggregates and the formation of stronger gels, and intermolecular interactions played an important role in this. Therefore, these new materials are part of a current context for the development of systems aimed at application as rheological modifiers for use in paints and encapsulation/controlled release of interesting molecules, important for the cosmetics and pharmaceutical industries.

Keywords: biosurfactants, cellulose nanocrystals, cellulose nanofibrils, rheology, structuring.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Figura 1.1 – A morfologia de agregados de sais de bile pode ser alterada conforme a interação com outras substâncias, como nanocristal de celulose (CNC) ou nanofibrila de celulose (CNF), interferindo nas propriedades reológicas dos sistemas.....	17
Figura 1.2 - Processo geral de micelização de surfactante em água conforme a variação da concentração de surfactante e tensão superficial.....	19
Figura 1.3 - Ilustração esquemática de um surfactante, seguindo o modelo geral cabeça-cauda	20
Figura 1.4 – (a) Estrutura molecular geral dos sais biliares derivados de ácido cólico ou deoxicólico e (b) modelo esquemático da estrutura desses sais	23
Figura 1.5 - Estrutura molecular do sal de bile NaDC	24
Figura 1.6 - Estrutura molecular do sal de bile NaTDC.....	25
Figura 1.7 - Diferentes morfologias obtidas para a autoassociação de surfactantes.	25
Figura 1.8 – (a) Estrutura molecular da celulose, sendo a (b) glicose unidade de repetição....	28
Figura 1.9 – Micrografia eletrônica de transmissão de CNFs, comprimento médio e diâmetro das nanofibrilas.....	30
Figura 1.10 – (a) Micrografia eletrônica de transmissão, comprimento e diâmetro de CNCs e (b) esquema do processo de hidrólise ácida para obtenção dos nanocristais.	31
Figura 1.11 - Diferentes relações entre tensão e taxa de cisalhamento. O gráfico apresenta o comportamento de fluidos Newtonianos (—) e não-Newtonianos (—), estes os quais podem ser classificados como pseudoplásticos ou dilatantes.	34
Figura 1.12 – Representação esquemática dos diferentes tipos de morfologia dos agregados dependendo do tipo de curva obtida.	38

CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DE CNCs OU CNFs NA FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE NaDC OU NaTDC

Figura 2.1 - Agregação dos sais de bile e formação de micelas primárias e secundárias.	40
Figura 2.2 - Ilustração esquemática do método de preparação dos sistemas de sal de bile/nanocelulose.	43
Figura 2.3 - Fotografias das dispersões finais de (a) 50 mM ou (b) 100 mM de NaDC misturadas com CNCs ou CNFs a 0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹	45
Figura 2.4 – Curva de fluxo ($\eta \times \gamma$) para o sistema de 50 mM de NaDC com 4,80 g L ⁻¹ de (●) CNC ou (○) CNF.	49
Figura 2.5 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaDC/nanocelulose (●) contendo CNCs ou CNFs a 0,96 g L ⁻¹ , 2,40 g L ⁻¹ ou 4,80 g L ⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.....	52

Figura 2.6 - Ensaio dinâmico das dispersões de 100 mM NaDC/nanocelulose (●) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L ⁻¹ , 2,40 g L ⁻¹ ou 4,80 g L ⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.....	54
Figura 2.7 - Comparação de curvas SAXS: (a) solução de 50 mM de NaDC (—); (b) 4,80 g L ⁻¹ de CNCs (—); (c) 4,80 g L ⁻¹ de CNFs (—) e dispersões de NaDC/nanocelulose variando (d) CNC a 0,96 g L ⁻¹ (—) ou 4,80 g L ⁻¹ (—) e (e) CNF a 0,96 g L ⁻¹ (—) ou 4,80 g L ⁻¹ (—).	56
Figura 2.8 – Estrutura molecular do (a) NaTDC e (b) NaDC.	58
Figura 2.9 - Fotografias das dispersões finais de 9,2 mM (a) ou 50 mM (b) de NaTDC misturadas com 0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹ de CNC ou CNF.	59
Figura 2.10 – Curva de fluxo ($\eta \times \gamma$) para o sistema de 50 mM de NaTDC com 4,80 g L ⁻¹ de (■) CNC ou (□) CNF.....	62
Figura 2.11 - Ensaio dinâmico das dispersões de 9,2 mM NaTDC/nanocelulose (■) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L ⁻¹ , 2,40 g L ⁻¹ ou 4,80 g L ⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.....	64
Figura 2.12 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaTDC/nanocelulose (■) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L ⁻¹ , 2,40 g L ⁻¹ ou 4,80 g L ⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.....	66
Figura 2.13 - Comparação de curvas SAXS: (a) solução de 50 mM de NaTDC (—) e dispersões de NaTDC/nanocelulose variando (b) CNC a 0,96 g L ⁻¹ (—) ou 4,80 g L ⁻¹ (—) e (c) CNF a 0,96 g L ⁻¹ (—) ou 4,80 g L ⁻¹ (—).....	67
Figura 2.14 – Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados pelos sais de bile NaDC ou NaTDC misturados com CNCs ou CNFs nas diferentes concentrações de sal de bile e nanocelulose.....	69

CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DAS PARTÍCULAS DE NANOCELULOSE EM SISTEMAS BINÁRIOS DE SAIS DE BILE

Figura 3.1 - Fotografias das dispersões finais de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile estudadas misturadas com 0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹ de CNC ou CNF.....	75
Figura 3.2 – Curva de fluxo ($\eta \times \gamma$) para o sistema de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC com 4,80 g L ⁻¹ de (★) CNC ou (☆) CNF.....	79
Figura 3.3 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC/nanocelulose (★) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L ⁻¹ , 2,40 g L ⁻¹ ou 4,80 g L ⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.....	81
Figura 3.4- Curvas SAXS para (a) solução equimolar (50 mM) de NaDC/NaTDC (—) e dispersão de NaDC/NaTDC contendo (b) CNC (—) ou (c) CNF a (—) a 4,80 g L ⁻¹	83
Figura 3.5 – Comparativo das curvas de fluxo, dinâmico de frequência e fotografias das amostras equimolares 50 mM de (●) NaDC, (■) NaTDC e (★) NaDC/NaTDC acrescidas de 4,80 g L ⁻¹ de CNC (a; b; c) ou CNF (d; e; f).	85

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Quadro 1.1 - Classificação de surfactantes naturais ou sintéticos de acordo com a carga iônica	21
Quadro 1.2 - Diferentes tipos de sais de bile que se diferenciam pelos radicais R ₁ e R ₂ (Figura 1.4 a) dependendo do processo de síntese o qual foram submetidos e o valor aproximado de cmc para cada sal a 20 °C.	24

CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DE CNCs OU CNFs NA FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE NaDC OU NaTDC

Tabela 2.1 – Valores dos tamanhos de partícula, x, obtidos para as soluções de 50 ou 100 mM de NaDC e após a adição de CNC ou CNF (0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹), acompanhados da intensidade de aparecimento em %.	46
Tabela 2.2 – Valores de PZ para as soluções de 50 mM e 100 mM de NaDC e dispersões de NaDC/nanocelulose nas diferentes concentrações de CNC ou CNF.	48
Tabela 2.3 – Valores de η_0 para as soluções de 50 mM e 100 mM de NaDC, dispersões de CNC ou CNF nas diferentes concentrações (0,96; 2,40 e 4,80 g L ⁻¹) e NaDC/nanocelulose.	50
Tabela 2.4 – Valores dos tamanhos de partícula, x, obtidos para as soluções de 9,2 ou 50 mM de NaTDC e após a adição de CNC ou CNF (0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹), acompanhados da intensidade de aparecimento em %.	60
Tabela 2.5 – Valores de PZ para as soluções de 9,2 mM e 50 mM de NaTDC e dispersões de NaTDC/nanocelulose nas diferentes concentrações de CNC ou CNF.	61
Tabela 2.6 – Valores de η_0 para as soluções de 9,2 mM e 50 mM de NaTDC, dispersões de CNC ou CNF nas diferentes concentrações (0,96; 2,40 e 4,80 g L ⁻¹) e NaTDC/nanocelulose.	63
Tabela 2.7 – Valores de G ₀ e G'/G'' para os sistemas de NaDC e NaTDC contendo CNFs, que apresentaram comportamento semelhante a géis, em todas as concentrações de sal de bile e nanocelulose.	71

CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DAS PARTÍCULAS DE NANOCELULOSE EM SISTEMAS BINÁRIOS DE SAIS DE BILE

Tabela 3.1 – Média dos valores de tamanho de partículas que apresentaram maior intensidade de aparecimento, em %, nas curvas de DLS, obtidos para as soluções de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais e bile e após a adição de CNC ou CNF (0,96; 2,40 ou 4,80 g L ⁻¹)	76
Tabela 3.2 – Valores de PZ, em mV, para as soluções de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile e NaDC/NaTDC/nanocelulose em diferentes concentrações de CNC ou CNF.	78
Tabela 3.3 – Valores de η_0 para NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile e dispersões de NaDC/NaTDC/nanocelulose em diferentes concentrações de CNC ou CNF (0,96; 2,40 e 4,80 g L ⁻¹).	79

Tabela 3.4 – Resumo dos principais resultados obtidos para os sistemas de 50 mM NaDC e/ou NaTDC contendo 4,80 g L⁻¹ de CNCs ou CNFs e possíveis aplicações desses nanomateriais. 87

LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>nm</i>	Nanômetro (10^{-9} m)
<i>μm</i>	Micrômetro (10^{-6} m)
<i>mM</i>	Concentração Milimolar (mmol L^{-1})
<i>mV</i>	Milivolt (10^{-3} V)
<i>cmc</i>	Concentração Micelar Crítica
<i>DLS</i>	Espalhamento de Luz Dinâmico (<i>Dynamic Light Scattering</i>)
<i>PZ</i>	Potencial Zeta
<i>SAXS</i>	Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (<i>Small-Angle X-Ray Scattering</i>)
<i>NaC</i>	Colato de Sódio (<i>Sodium Cholate</i>)
<i>NaTC</i>	Taurocolato de Sódio (<i>Sodium Taurocholate</i>)
<i>NaDC</i>	Deoxicolato de Sódio (<i>Sodium Deoxycholate</i>)
<i>NaTDC</i>	Taurodeoxicolato de Sódio (<i>Sodium Taurodeoxycholate</i>)
<i>CNCs</i>	Nanocristais de Celulose (<i>Cellulose Nanocrystals</i>)
<i>CNFs</i>	Nanofibrilas de Celulose (<i>Cellulose Nanofibrils</i>)
τ	Tensão Aplicada
G_0	Módulo no Platô (Entrelaçamentos)
G'	Módulo de Armazenamento ou Elasticidade
G''	Módulo de Perda ou Viscosidade
$\dot{\gamma}$	Taxa de Cisalhamento
η	Viscosidade Aparente
η_0	Viscosidade de Repouso
τ_R	Tempo de Relaxação
q	Vetor de Espalhamento
θ	Ângulo de Espalhamento

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	16
1.1 INTRODUÇÃO	16
1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
<i>1.2.1 Sistemas autoagregados</i>	<i>18</i>
<i>1.2.2 Biossurfactantes</i>	<i>20</i>
<i>1.2.3 Sais de Bile</i>	<i>22</i>
<i>1.2.4 Autoagregados de Sais De Bile: Formação, Modificação Estrutural e Aplicações</i>	<i>25</i>
<i>1.2.5 Nanocelulose</i>	<i>27</i>
<i>1.2.6 Reologia.....</i>	<i>33</i>
<i>1.2.7 Tamanho, Estabilidade e Forma dos Agregados</i>	<i>36</i>
1.3 OBJETIVO E JUSTIFICATIVA.....	39
CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DE CNCs OU CNFs NA FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE NaDC OU NaTDC.....	40
2.1 INTRODUÇÃO	40
<i>2.1.1 Objetivos Específicos.....</i>	<i>41</i>
2.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	41
<i>2.2.1 Material</i>	<i>41</i>
<i>2.2.2 Preparo das Dispersões de Sal de Bile/Nanocelulose</i>	<i>42</i>
<i>2.2.3 Métodos</i>	<i>43</i>
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
<i>2.3.1 Influência da Nanocelulose em Autoagregados de NaDC</i>	<i>45</i>
<i>2.3.2 Influência da nanocelulose em autoagregados de NaTDC.....</i>	<i>58</i>
<i>2.3.3 Comparação entre os agregados de NaDC/nanoceluloses e NaTDC/nanoceluloses.....</i>	<i>68</i>
CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DAS PARTÍCULAS DE NANOCELULOSE EM SISTEMAS BINÁRIOS DE SAIS DE BILE.....	73
3.1 INTRODUÇÃO	73
<i>3.1.1 Objetivos Específicos.....</i>	<i>74</i>
3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	74
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
<i>3.3.1 Análise visual das dispersões de NaDC/NaTDC.....</i>	<i>75</i>

<i>3.3.2 Efeito da nanocelulose sobre a distribuição do tamanho das partículas dos agregados mistos de NaDC/NaTDC</i>	76
<i>3.3.3 Influência da nanocelulose sobre a estabilidade coloidal de agregados de agregados binários de sais de bile</i>	77
<i>3.3.4 Análise reológica dos sistemas de NaDC/NaTDC/nanocelulose</i>	78
<i>3.3.5 Análise estrutural dos agregados de 50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/ 4,80 g L⁻¹ nanocelulose</i>	82
<i>3.3.6 Estudo comparativo da influência da nanocelulose nos agregados de 50 mM NaDC, 50 mM NaTDC e 50 mM NaDC/50 mM NaTDC</i>	84
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
4.1 CONCLUSÕES	88
4.2 PERSPECTIVAS FUTURAS	89
REFERÊNCIAS	90
APÊNDICE A	102
APÊNDICE B	104
APÊNDICE C	107

CAPÍTULO 1

Considerações Gerais

1.1 INTRODUÇÃO

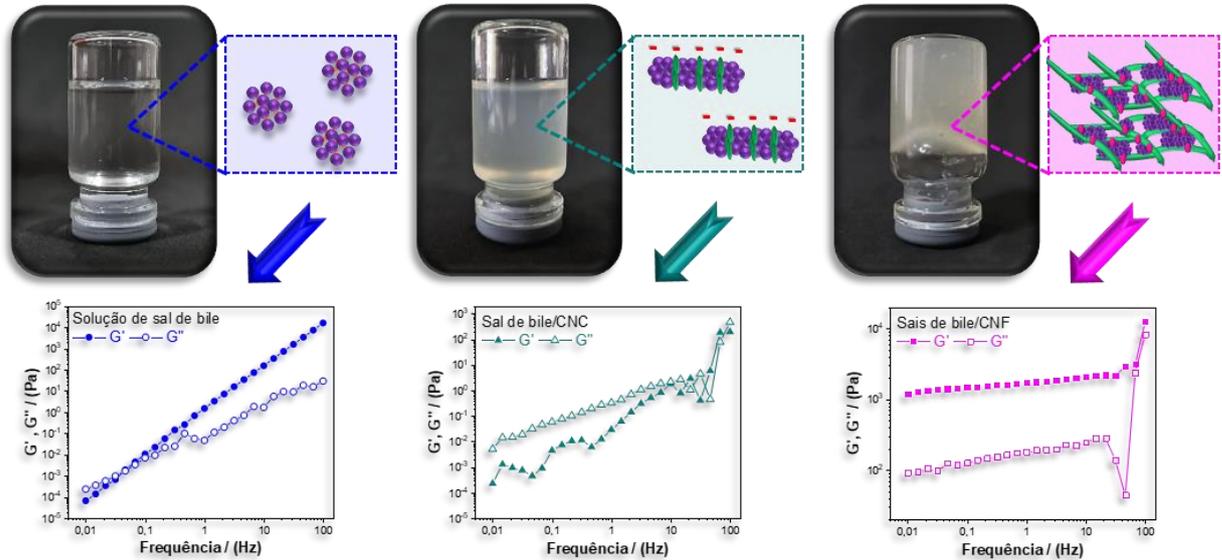
A nanociência e a nanotecnologia são as áreas que visam a obtenção e utilização de materiais na escala nanométrica (de 1 até 1000 nm). As propriedades químicas, físicas, mecânicas e ópticas dos nanomateriais dependem principalmente das interações intra- e intermoleculares estabelecidas nas superfícies dos materiais e são essenciais na utilização destes, porque envolvem aspectos importantes como tamanho de partícula, concentração, grupos funcionais e carga superficial (Abid *et al.*, 2022). Diversas nanotecnologias vêm sendo aplicadas na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e de eletrônicos, bem como no meio ambiente e na medicina, visando a resolução inovadora de problemas (Bhushan, 2017; Nasrollahzadeh *et al.*, 2019).

Neste trabalho, estudou-se o efeito e a influência da adição de nanopartículas de celulose sobre a estrutura de sistemas autoagregados de sais de bile em meio aquoso. Os sais de bile são biossurfactantes que formam espontaneamente estruturas com diferentes morfologias quando acima da concentração micelar crítica (cmc) (Mukherjee *et al.*, 2016; Nelson; Cox, 2018; Chen *et al.*, 2022) e esses autoagregados podem ter a estrutura modificada conforme a adição de outras substâncias (Chu; Dreiss; Feng, 2013; Sun *et al.*, 2014; Zhang, H. *et al.*, 2021), como nanomateriais de celulose (Figura 1.1). Consequentemente, a viscoelasticidade desses sistemas pode ser alterada devido a diferentes interações intermoleculares estabelecidas entre as espécies (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Goodwin; Hughes, 2000).

A obtenção de agregados formados por sais de bile e nanocelulose são sistemas promissores e inovadores como modificadores reológicos, uma vez que são materiais de fácil acesso, baixo custo e atóxicos, sendo importantes para aplicação na indústria de cosméticos, alimentícia e de tintas (Dimic-Misic; Gane; Paltakari, 2013; Liu *et al.*, 2017; Aaen *et al.*, 2019; Lengowski; Junior, 2019; Mekkaoui *et al.*, 2021; Zhang H. *et al.*, 2021), por exemplo, embora existam poucos trabalhos na literatura que estudaram a interação desses nanomateriais (Liu; Kong, 2019). Ademais, esses sistemas auto-organizados permitem avanços em relação ao estudo de plataformas de liberação de fármacos (Mukherjee *et al.*, 2016; Macierzanka *et al.*, 2019; Zambuzi *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2024), já que podem ser modulados a partir da adição

das diferentes espécies químicas em diferentes proporções. Portanto, é fundamental que a estruturação dos sistemas autoagregados de sais de bile/nanocelulose seja elucidada.

Figura 1.1 – A morfologia de agregados de sais de bile pode ser alterada conforme a interação com outras substâncias, como nanocristal de celulose (CNC) ou nanofibrila de celulose (CNF), interferindo nas propriedades reológicas dos sistemas.



Fonte: Autoria própria (2024).

O estudo será dividido em quatro capítulos: o presente, **Capítulo 1**, abordará as considerações gerais do trabalho por meio da fundamentação teórica, objetivo e justificativa do trabalho. O **Capítulo 2**, trará o estudo sobre a influência das nanoceluloses em autoagregados de diferentes sais de bile, acerca dos fenômenos relacionados a medidas de reologia, espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial zeta (PZ) e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) de forma a avaliar efeitos sobre a viscoelasticidade dos sistemas, distribuição de tamanho de partículas, estabilidade coloidal e estruturação em dispersão aquosa. No **Capítulo 3**, a mesma análise da influência das nanopartículas de celulose será abordada, porém os sistemas serão formados pela mistura dos sais de bile (sistemas binários). Por fim, o **Capítulo 4** abordará as considerações finais sobre o trabalho e as perspectivas futuras sobre o estudo.

1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.2.1 Sistemas autoagregados

O controle sobre o processo de auto-ordenamento de nanopartículas tem sido objeto de muitas pesquisas devido à crescente demanda de tecnologias com ação específica e direcionada de determinadas substâncias em diversos sistemas (Zhao; Wang; Wang, 2018; Zhang, Q. *et al.*, 2021; Aubrey *et al.*, 2021; Ling *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022; Tan *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2023). A estrutura de sistemas autoagregados pode ser modulada conforme alterações físico-químicas do meio em que estão inseridos como valor de pH e temperatura (Suys *et al.*, 2017; Du *et al.*, 2020). Consequentemente, modificações na morfologia dessas estruturas afetam diretamente a reologia destes sistemas (Barnes; Hutton; Walters, 1993).

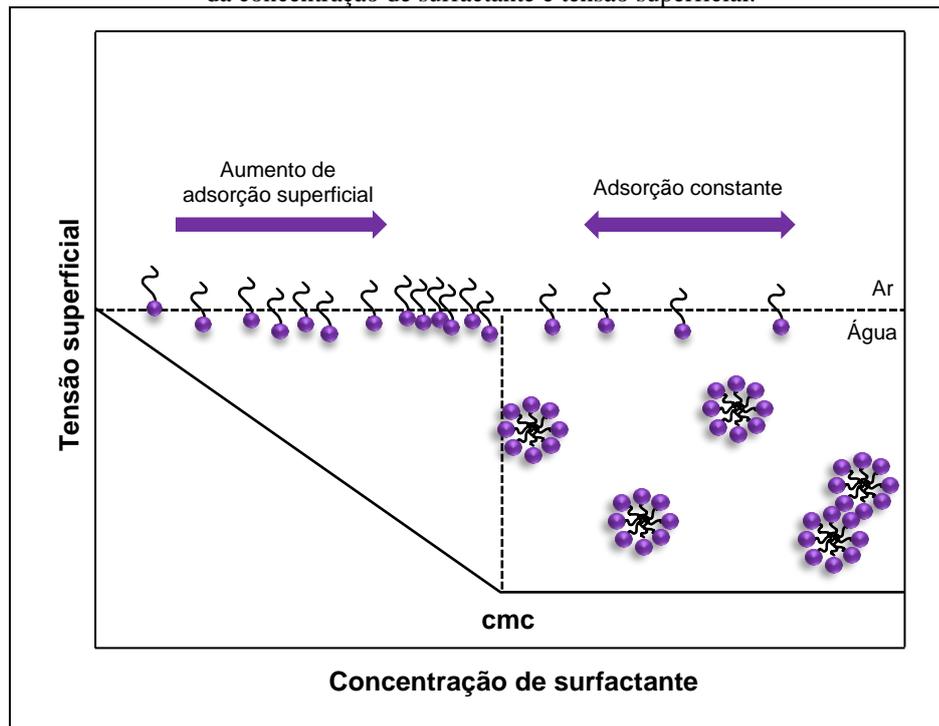
Souza *et al.* (2024) desenvolveram nano/micropartículas envolvendo a agregação de proteína e polissacarídeo (caseína/carboximetilcelulose) em meio aquoso, desencadeada por interações eletrostáticas condicionadas a variação de pH dos sistemas. O valor de pH e a proporção do polissacarídeo derivado de celulose desempenharam um papel essencial na morfologia, tamanho, estabilidade coloidal e, conseqüentemente, no comportamento reológico dos sistemas, uma vez que o aumento da quantidade de carboximetilcelulose nos sistemas em pH 4 possibilitou a formação de partículas menores e sistemas com melhores propriedades viscoelásticas, conferindo alta estabilidade para as dispersões, vinculadas a mudanças morfológicas das partículas formadas.

Nessa perspectiva, surfactantes, ou tensoativos, são moléculas que quando em concentrações acima da cmc também formam espontaneamente agregados, os quais podem ser de fases ordenadas (lamelares, hexagonais etc.) e/ou fases desordenadas (micelas, micelas cilíndricas ou gigantes, dentre outros), dirigidas principalmente por interações hidrofóbicas em fase aquosa (Chen *et al.*, 2022) e ligações de hidrogênio em fase orgânica (Kanazawa *et al.*, 2020). A cmc é definida como a concentração mínima de surfactante necessária para reduzir a tensão superficial do solvente e há formação das primeiras micelas em solução, estando relacionada com a orientação tridimensional do tensoativo num solvente (Moldes *et al.*, 2020; Ramesh; Sakthishobana, 2021). É uma propriedade intrínseca e característica do surfactante e seus valores mudam conforme a estrutura das moléculas e condições físico-químicas como pH e temperatura (Shaw, 1975; Mukherjee *et al.*, 2016; Moldes *et al.*, 2020). A cmc pode ser definida, dentre outros métodos, por condutometria e tensiometria (Poša; Ćirin, 2012), sendo

um parâmetro importante na caracterização de um surfactante. Sua determinação é fundamental para entender e controlar o comportamento de sistemas que envolvem surfactantes.

Em meio aquoso, as micelas se formam orientando as porções hidrofóbicas dos surfactantes em direção ao núcleo da micela e os grupos de cabeça hidrofílicos em direção à fase aquosa (Figura 1.2) (Jafari; Sillanpää, 2020; Chen *et al.*, 2022).

Figura 1.2 - Processo geral de micelização de surfactante em água conforme a variação da concentração de surfactante e tensão superficial.



Fonte: A autoria própria (2024).

A estrutura dos sistemas autoagregados de surfactantes também pode ser alterada na presença de certas moléculas, uma vez que a natureza química da partícula adicionada afeta a sua distribuição no interior dos agregados e na fase dispersa, podendo aprimorar propriedades desses sistemas (Sun *et al.*, 2014; Mukherjee *et al.*, 2016; Zhang, H. *et al.*, 2021).

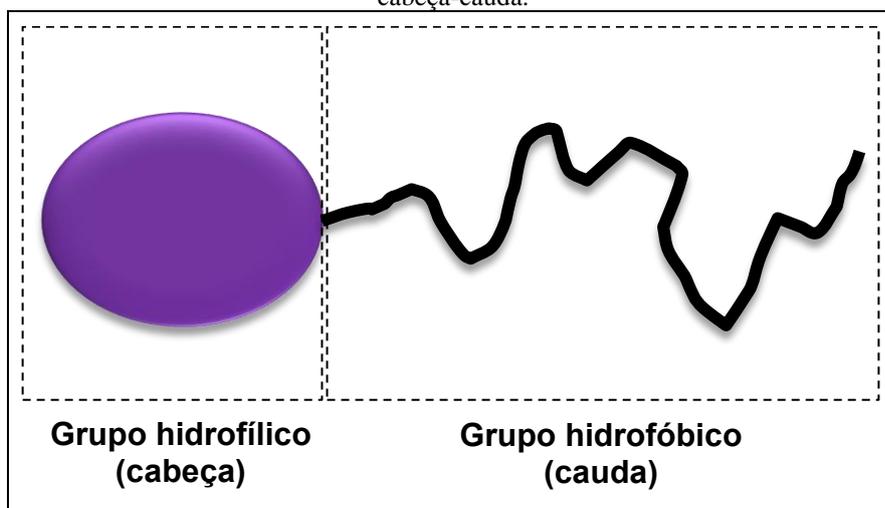
Sistemas auto-organizados geralmente exibem pronunciada viscoelasticidade e, dependendo do tipo de agregado formado, são necessários diferentes modelos que expliquem o comportamento viscoelástico da fase (Macosko, 1994). Por exemplo, soluções semidiluídas contendo polímeros de alta massa molecular ou estruturas supramoleculares que se assemelham as cadeias poliméricas, tais como micelas gigantes e agregados cilíndricos, são descritas razoavelmente pelo modelo de Maxwell (Francisco *et al.*, 2010), em que é possível relacionar parâmetros reológicos obtidos, como módulo no platô (entrelaçamento dos agregados em uma dada temperatura) e tempo de relaxação, com os parâmetros estruturais do agregado (Barnes;

Hutton; Walters, 1993). Estudos reológicos envolvendo esses sistemas possibilitam uma variedade de aplicações dos materiais formados como modificadores reológicos importantes para diversos setores industriais (Liu *et al.*, 2017; Aaen *et al.*, 2019; Mekkaoui *et al.*, 2021; Zhang, H. *et al.*, 2021).

1.2.2 Biossurfactantes

Surfactantes são definidos como agentes que possuem atividade na superfície (contração do termo *surface active agent*) (Holmberg *et al.*, 2002a). De modo geral, a principal propriedade dos surfactantes é tendência de ser adsorvido em superfícies e interfaces (Holmberg *et al.*, 2002a; Rabóczkay, 2016). Estruturalmente, suas moléculas apresentam duas regiões distintas, na maioria das vezes, bem definidas: uma parte denominada como cabeça hidrofílica (polar) e outra denominada como cauda hidrofóbica (apolar) (Figura 1.3). Devido a isso, essas moléculas são chamadas de anfifílicas (Holmberg *et al.*, 2002a).

Figura 1.3 - Ilustração esquemática de um surfactante, seguindo o modelo geral cabeça-cauda.



Fonte: Autoria própria (2024).

Os chamados biossurfactantes são surfactantes naturais e biomoléculas não tóxicas, ou menos tóxicas que os surfactantes químicos, gerados a partir de fontes biológicas e comumente utilizados como alternativas ambientalmente amigáveis (Esmaeili *et al.*, 2021). Na indústria de cosméticos e farmacêutica são aplicados como agentes formadores de emulsões, solubilizantes e dispersantes (Moldes *et al.*, 2020), bem como na indústria alimentícia (Silva *et al.*, 2020). Na indústria petroquímica são aplicados para a remediação de ambientes aquáticos (Ramesh; Sakthishobana, 2021).

Conforme a carga elétrica presente na porção hidrofílica da molécula, os surfactantes sintéticos ou naturais podem ser classificados como aniônicos, catiônicos, não-iônicos ou zwitteriônicos (ou anfóteros) (Quadro 1.1).

Quadro 1.1 - Classificação de surfactantes naturais ou sintéticos de acordo com a carga iônica

Classificação	Definição e aplicações	Exemplos
Aniônico	Grupo hidrofílico possui carga negativa (grupo carboxila, sulfonato etc.), que contribui para uma maior eficiência de detergência. Aplicados na fabricação de materiais para quebra de gordura (sabão).	Dodecil sulfato de sódio Sais de bile
Catiônico	Surfactantes com carga positiva. Aplicados como bactericidas e amaciantes industriais.	Sais quaternários de amônio
Não Iônico	A molécula não tem carga e não são afetados pela presença de eletrólitos.	Polietilenoglicóis Álcoois Alquilfenóis
Zwitteriônico	Moléculas com cargas positivas e negativas dependendo do pH do meio em que se encontram. Utilizados na formulação de cosméticos e materiais de higiene por não apresentarem irritação a olhos e pele.	Lecitinas Betaínas

Fonte: Autoria própria (2024). Adaptado de Felipe; Dias (2017); Moldes *et al.* (2020); Le *et al.* (2019).

Os biossurfactantes podem ser classificados com base na sua carga iônica, como os surfactantes sintetizados quimicamente. Porém, também são comumente classificados de acordo com a composição química da molécula (Araujo; Freire; Nitschke, 2013; Felipe; Dias, 2017; Moldes *et al.*, 2020). Sendo assim, citam-se os glicolipídios, lipopeptídios e lipoproteínas, fosfolipídios e ácidos graxos, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados (Moldes *et al.*, 2020).

Os sais de bile são exemplos de biossurfactantes, derivados do colesterol, um lipídio anfifílico (Nelson; Cox, 2018). Eles atuam como detergentes biológicos, ajudando na emulsificação e absorção de gorduras no intestino, por meio da formação de complexas micelas mistas de sais biliares com ácidos graxos, fosfolipídios e outras espécies (Holm; Müllertz; Mu, 2013; Macierzanka *et al.*, 2019; Di Gregorio; Cautela; Galantini, 2021). Essas micelas aumentam a solubilidade das gorduras no ambiente aquoso do intestino, permitindo que as enzimas digestivas acessem mais facilmente as moléculas lipídicas, facilitando a digestão e a absorção de gorduras e vitaminas lipossolúveis. Assim, devido suas propriedades de

autoagregação, os sais de bile têm sido amplamente utilizados nas indústrias de cosméticos e farmacêutica (Senyigit, 2011; Bashyal *et al.*, 2021; Can; Tyler; Mackie, 2021; Beg *et al.*, 2021; Durník *et al.*, 2022).

1.2.3 Sais de Bile

Os sais de bile, importantes na digestão e adsorção de nutrientes, são provenientes de ácidos biliares desprotonados dissolvidos na bile e secretados no duodeno na forma de sais de sódio (Macierzanka *et al.*, 2019). Os ácidos biliares são divididos em primários (ácido cólico e quenodeoxicólico) e secundários (ácido deoxicólico e litocólico) (Stamp; Jenkins, 2009; Holm; Müllertz; Mu, 2013). Os primários são naturalmente sintetizados pelo fígado humano a partir de colesterol e armazenados na vesícula biliar. Já os secundários são formados através da conversão dos primários pelo metabolismo de bactérias da flora intestinal (Holm; Müllertz; Mu, 2013; Di Gregorio; Cautela; Galantini, 2021). Os ácidos biliares podem ser conjugados com os aminoácidos taurina ou glicina (AguiarVallim; Tarling; Edwards, 2013), dando origem aos sais biliares primários ou secundários conjugados (Reschly *et al.*, 2008; Poša; Ćirin, 2012; Sun *et al.*, 2014; Chiang; Ferrel, 2019; Macierzanka *et al.*, 2019).

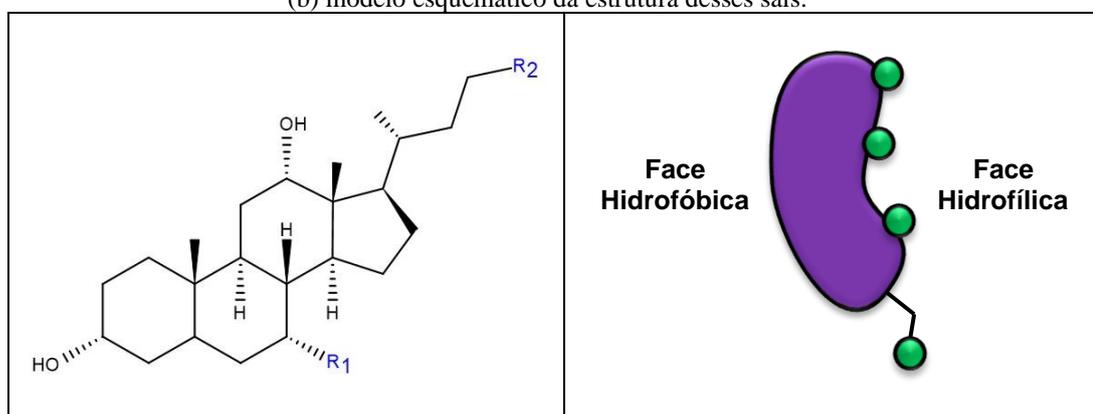
De acordo com a conjugação e o grau de hidroxilação, os sais de bile são categorizados em: (i) conjugados trihidroxi (como taurocolato e glicocolato), (ii) conjugados dihidroxi (como glicodeoxicolato, glicoquenodesoxicolato, tauroquenodeoxicolato e taurodeoxicolato) e (iii) não conjugados (como colato, deoxicolato e quenodeoxicolato) (Zughaid *et al.*, 2012). Além disso, os diferentes sais de bile possuem vasta faixa de cmc em água (Mukherjee *et al.*, 2016; Macierzanka *et al.*, 2019).

As micelas dos sais de bile possuem baixo poder de solubilização de moléculas hidrofóbicas, que pode ser explicado pelo pequeno tamanho dos agregados. O processo de conjugação diminui a hidrofobicidade dos sais biliares e os provenientes de ácidos secundários são mais hidrofóbicos do que os de primários (Heuman, 1989). No entanto, os sais de bile conjugados com glicina e taurina podem formar micelas mistas de sais bile e fosfolipídios (lecitina), por exemplo, de forma a aumentar o domínio hidrofóbico da micela e, conseqüentemente, aumentar a capacidade das micelas de solubilizar substâncias hidrofóbicas (Poša; Ćirin, 2012).

As moléculas desses biossurfactantes possuem grupos polares formados por hidroxilas e ácidos orientados para uma face côncava (região hidrofílica) e anel esteroideal rígido orientado a uma face convexa (região hidrofóbica), diferentemente da maioria dos surfactantes que possui

a clara divisão cauda-cabeça (Poša; Ćirin, 2012; Boyer, 2013; Faustino *et al.*, 2014; Mukherjee *et al.*, 2016; Jover *et al.*, 2021). Devido a essa geometria especial, os sais biliares são moléculas anfifílicas planares com formação característica de pequenos agregados com números de agregação de 2 a 10 monômeros, diferentemente de outros surfactantes que formam micelas maiores com números de agregação de 80 a 120, por exemplo (Poša; Ćirin, 2012; Moghimipour; Ameri; Handali, 2015; Azum; Rub; Asiri, 2020). A Figura 1.4 *a* apresenta a estrutura molecular geral dos sais de bile conjugados a partir do ácido biliar primário ácido cólico ou secundário ácido deoxicólico, que se diferenciam pelos radicais, R_1 e R_2 , e, em *b*, o modelo esquemático de suas faces.

Figura 1.4 – (a) Estrutura molecular geral dos sais biliares derivados de ácido cólico ou deoxicólico e (b) modelo esquemático da estrutura desses sais.



Fonte: Autoria própria (2024).

Por causa da posição dos grupos hidroxilas e ácidos nas moléculas de sais de bile, as ligações de hidrogênio são diretas e específicas, tornando os agregados rígidos devido à limitação que existe na forma com que essas ligações podem ocorrer entre as estruturas dos surfactantes (Warren *et al.*, 2006; Madenci; Egelhaaf, 2010). Além das interações de Van Der Waals e ligações de hidrogênio, os sais de bile interagem via interações eletrostáticas conferindo interações repulsivas entre os agregados formados, as quais podem ser moduladas por variações de pH e força iônica da solução (Suys *et al.*, 2017).

O colato de sódio (NaC) é um exemplo de sal de bile amplamente estudado na literatura com grande relevância na formação de carreadores vesiculares para sistemas de entrega de medicamentos (Maslova; Kiselev, 2018). Entretanto, neste trabalho, os sais de bile NaDC e NaTDC foram utilizados tendo em vista a necessidade de se ampliar os estudos com diferentes sais de bile e, além disso, avaliar como como mudanças na estrutura molecular desses dois sais,

as quais se diferem pela inserção do grupo referente à taurina no segundo caso, podem interferir na estruturação de agregados (Singh; Chauhan, 2020; Pabois *et al.*, 2020).

O Quadro 1.2 mostra alguns exemplos dos sais de bile, que se diferem de acordo com o processo de secreção ou conjugação ao qual foram submetidos, de forma a possuir diferentes valores de cmc em meio aquoso.

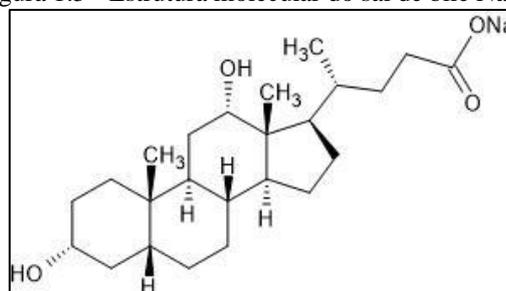
Quadro 1.2 - Diferentes tipos de sais de bile que se diferenciam pelos radicais R₁ e R₂ (Figura 1.4 a) dependendo do processo de síntese o qual foram submetidos e o valor aproximado de cmc para cada sal a 20 °C.

Sal de bile	R ₁	R ₂	cmc (mM)
Colato de sódio (NaC)	-OH	-COONa	7,8
Taurocolato de sódio (NaTC)	-OH	-CONH(CH ₂) ₂ SO ₃ Na	6,7
Deoxicolato de sódio (NaDC)	-H	-COONa	3,8
Taurodeoxicolato de sódio (NaTDC)	-H	-CONH(CH ₂) ₂ SO ₃ Na	1,9

Fonte: Adaptado de Kong *et al.* (2023); Mukherjee *et al.* (2016).

O deoxicolato de sódio (NaDC) (Figura 1.5) é o sal de sódio derivado do ácido deoxicólico. O ácido deoxicólico é um dos ácidos biliares secundários, que são subprodutos metabólicos das bactérias intestinais a partir do ácido cólico e difere-se do primário por meio de uma hidroxila em sua estrutura molecular (Chiang; Ferrell, 2019). O NaDC é utilizado como detergente biológico em sistemas injetáveis para redução de gordura localizada (Duncan; Palmer, 2008), possui boas propriedades bactericidas (Kong *et al.*, 2023) e tem sido estudado em nanotecnologia devido as suas propriedades de autoagregação (Jover *et al.*, 2021) e formação de géis (Sun *et al.*, 2014), inclusive para uso de liberação de fármacos (Valenta; Nowack; Bernkop-Schnurch, 1999, Bhattacharjee *et al.*, 2010; Senyigit, 2011).

Figura 1.5 - Estrutura molecular do sal de bile NaDC.

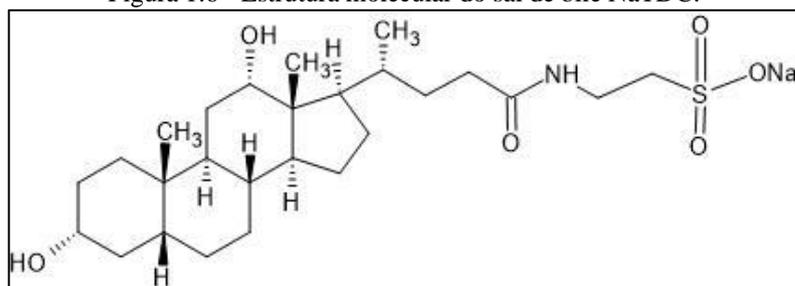


Fonte: Autoria própria (2024).

O taurodeoxicolato de sódio (NaTDC) (Figura 1.6) é um sal de bile secundário conjugado com taurina (Moghimpour; Ameri; Handali, 2015; Macierzanka *et al.*, 2019),

importante na nanotecnologia, considerando sua capacidade de autoagregação em diferentes estruturas (Li; McGown, 1993; Wang; Fernandes; Marques, 2019). Dentre outras características, suas propriedades de interação hidrofóbica têm demonstrado resultados interessantes para evitar a degeneração proteica (Kong *et al.*, 2023) e resultados promissores para uso de suas micelas como carreadores de fármacos (Song; Chung; Shim, 2005).

Figura 1.6 - Estrutura molecular do sal de bile NaTDC.

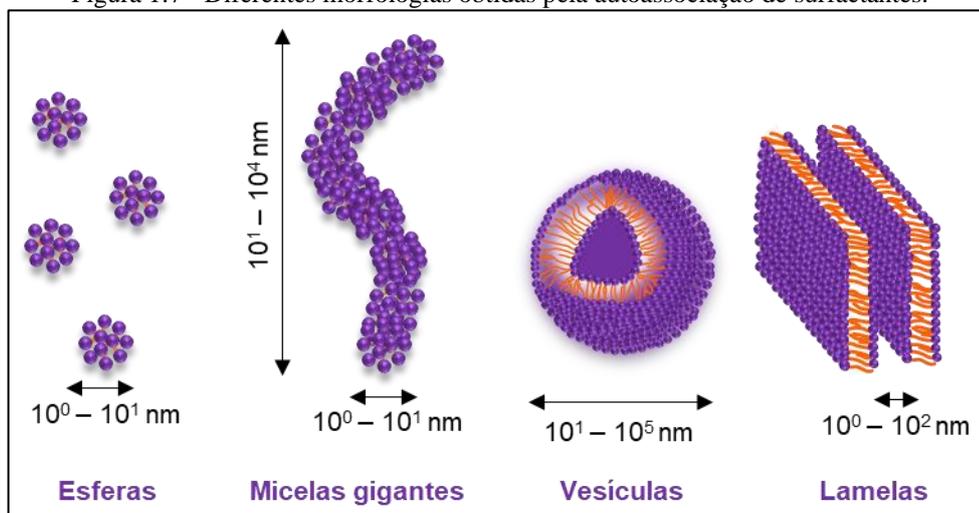


Fonte: Autoria própria (2024).

1.2.4 Autoagregados de Sais De Bile: Formação, Modificação Estrutural e Aplicações

A razão volumétrica entre as partes hidrofóbicas e hidrofílicas e a concentração dos surfactantes influenciam a formação de micelas autoagregadas com diferentes estruturas: esféricas, em formato de disco, vesículas, micelas gigantes etc., dependendo da estrutura química do surfactante, assim como da condição físico-química do meio (Figura 1.7) (Chu; Dreiss; Feng, 2013). As diferentes estruturas dos sais de bile ocorrem devido à interação deles com diferentes substâncias através de interações específicas.

Figura 1.7 - Diferentes morfologias obtidas pela autoassociação de surfactantes.



Fonte: Autoria própria (2024). Adaptado de Chu; Dreiss; Feng (2013).

Na literatura são encontrados estudos sobre a formação de estruturas mistas de sais de bile entre si (Mukherjee *et al.*, 2016; Jover *et al.*, 2021), com surfactantes não-iônicos (Tanaka *et al.*, 1995; Bhattacharjee *et al.*, 2010; Maswal; Dar, 2013; Rathod *et al.*, 2021), surfactantes iônicos (Faustino *et al.*, 2014; Yadav; Parikh; Kumar, 2017; Di Gregorio *et al.*, 2018; Wang; Fernandes; Marques, 2019) e polímeros (Di Gregorio *et al.*, 2017; Pigliacelli *et al.*, 2019; Wang; Fan, 2019; Du *et al.*, 2020).

Sun *et al.* (2014) investigaram a influência da adição de aminoácidos e sais haleto nas propriedades reológicas de géis de NaDC. Os resultados mostraram que os aminoácidos podem destruir a estrutura de rede dos hidrogéis formados de forma a prejudicar a viscoelasticidade dos sistemas. Em contrapartida, os sais inorgânicos apresentaram melhor capacidade em induzir o entrelaçamento das micelas de NaDC, proporcionando sistemas com excelentes propriedades tixotrópicas, provavelmente devido a formação de estruturas mais alongadas entre NaDC e os sais haleto (Chu; Dreiss; Feng, 2013). Esses resultados indicam que a adição de diferentes substâncias pode contribuir para a quebra ou maior interação com autoagregados de sais de bile, formando diferentes estruturas e interferindo nas propriedades reológicas das dispersões formadas pelos sais.

Medidas de SAXS e de espalhamento de nêutrons a baixo ângulo (SANS) podem elucidar as diferentes morfologias dos sais de bile. Diferentes estruturas moleculares de sais de bile, como a do NaTC e do NaTDC, com valores de cmc de 6,7 mM e 1,9 mM, respectivamente, a 20 °C (Mukherjee *et al.*, 2016), apresentam comportamento de micelização diferente, levando a diferentes tamanhos e formas. O NaTDC possui valor de cmc menor e forma micelas maiores e mais esféricas do que o NaTC, cuja micelização ocorre em ampla faixa de concentrações. A micelização em diferentes morfologias é impulsionada pelas faces hidrofóbicas planares dos sais de bile (Pabois *et al.*, 2021).

Dentre as inúmeras aplicações, os sais de bile são importantes na solubilização de diversas moléculas como lipídios (Di Gregorio; Cautela; Galantini, 2021), colesterol (Paul; Balaram, 1978) e esteroides (Wiedmann; Liang; Kamel, 2002). Mukherjee *et al.* (2016) elucidaram que as propriedades interfaciais e de fase de sais de bile podem ser alteradas conforme combinações binárias e ternárias em solução aquosa. Além disso, demonstrou que a cmc desses sistemas pode ser modulada conforme a variação de temperatura, sendo útil para estudos sobre a capacidade dos sistemas mistos atuarem como carreadores de substâncias, além de poderem atuar na solubilização de drogas específicas. Assim, estudos demonstram as potencialidades que os sais de bile têm para a formulação de materiais como plataforma de

liberação controlada de princípios ativos e fármacos (Bashyal *et al.*, 2021; Can; Tyler; Mackie, 2021; Beg *et al.*, 2021; Durník *et al.*, 2022), indução da morte celular programada de variados tipos de células cancerígenas (Kim *et al.*, 2006), bem como são promissores para o tratamento de doenças, como diabetes mellitus (Nemati *et al.*, 2022).

A autoagregação dos sais de bile também pode promover a criação de materiais utilizados como importantes modificadores reológicos. Nessa perspectiva, nanopartículas de sílica ou argila puderam aprimorar a atividade emulsificante de NaDC, tendo em vista sua pouca habilidade de emulsificação (Zhang, H. *et al.* 2021). A interação entre os sais de bile e a nanocelulose foi investigada por Liu; Kong (2019), por meio dos efeitos da nanocelulose na difusão de ácidos biliares em sistemas simulados de digestão intestinal e solubilização de lipídios. Os resultados demonstraram que a grande área de superfície específica do nanomaterial possibilita efeito de retardo na absorção dos sais de bile, sendo que a nanocelulose pôde reduzir a atividade da lipase de forma a aumentar da viscosidade da digestão intestinal, sendo promissora para o uso como emulsificante. Apesar dos resultados promissores, a literatura apresenta poucos trabalhos que estudaram a interação de sais de bile/nanocelulose, principalmente em relação a reologia desses sistemas e, conseqüentemente, a estruturação dos autoagregados formados. Portanto, ainda são necessários estudos que elucidem a morfologia e viscoelasticidade de sistemas autoagregados de sais de bile/nanocelulose, ampliando a gama de aplicações em diversos setores.

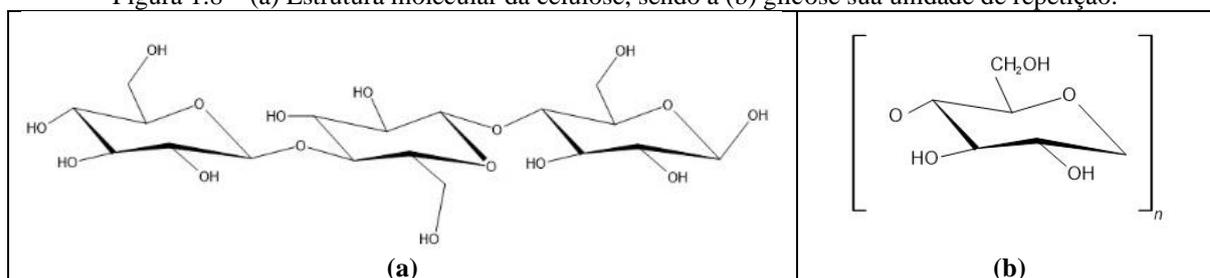
1.2.5 Nanocelulose

A celulose (Figura 1.8 a) é um polissacarídeo presente nas plantas que também pode ser sintetizada por determinadas espécies de fungos e bactérias (Jakob *et al.*, 2021). Sua cadeia linear possui anéis D-glucopiranosose ligados em β -1,4, é o polímero mais abundante na Terra (Chen *et al.*, 2021b) e tem a glicose como unidade repetitiva em sua estrutura molecular (French, 2017) (Figura 1.8 b). Além disso, a celulose é considerada um dos elementos estruturais mais importantes nas plantas e outras espécies vivas como algas (Dufresne, 2019). A estrutura química da celulose apresenta grupos hidroxila que fazem ligações de hidrogênio, as quais são responsáveis pela formação de arranjos cristalinos e proporcionam caráter hidrofílico e rigidez à cadeia do polímero (Camargos; Rezende, 2021).

As fibras lignocelulósicas consistem em um agregado de microfibrilas cimentadas, as quais fornecem alta resistência aos vegetais com um mínimo de material. Devido à sua estrutura hierárquica e natureza semicristalina, nanomateriais podem ser extraídos dessas fibras por meio

de estratégias de desconstrução *top-down* induzidas mecânica ou quimicamente (Dufresne, 2019). Assim, as nanoceluloses, a saber nanocristais de celulose (CNCs) e nanofibrilas de celulose (CNFs), têm sido amplamente empregadas com o objetivo de aprimorar propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e reológicas quando incorporados em materiais, devido à leveza, rigidez, baixa densidade e transparência, além de serem de natureza renovável, abundante e biodegradável (Dufresne, 2019; Camargos; Rezende, 2021; Calle-Gil; Castillo-Martínez; Carretero-González, 2022; Ren *et al.*, 2022).

Figura 1.8 – (a) Estrutura molecular da celulose, sendo a (b) glicose sua unidade de repetição.



Fonte: Autoria própria (2024).

CNCs e CNFs podem ser extraídos de uma infinidade de fontes celulósicas, por meio de diversas técnicas, e funcionalizados conforme a necessidade de estudo. Apesar de a madeira ser a principal fonte industrial de fibras celulósicas, a demanda por tais matérias-primas aumentou como consequência da competição entre os diversos setores que a utilizam. Dessa forma, tem aumentado o interesse, nos últimos anos, por outras fontes como culturas agrícolas e seus subprodutos, pois oferecem benefícios ambientais devido a sua natureza renovável e baixo consumo de energia na produção (Dufresne; Cavaille; Vignon, 1997; Alemdar; Sain, 2008). Assim, fontes de biomassa como arroz, algodão, beterraba, trigo, soja, banana, bagaço de cana de açúcar etc., têm sido utilizadas para extração (Lavoine *et al.*, 2012; Radhawa *et al.*, 2022).

A transformação da celulose à nanoescala permite a obtenção de elevada área superficial específica, propiciando fenômenos de superfícies (Wang *et al.*, 2022). As nanoceluloses podem ter as superfícies quimicamente modificadas devido à alta reatividade inerente da celulose e os grupos hidroxila presentes na superfície, com o intuito de melhorar as propriedades e expandir possibilidades de aplicações (Liu *et al.*, 2007; Peng *et al.*, 2011). Dentre a variedade de métodos de modificação superficial existentes, podem ser citados o acoplamento de pequenas moléculas hidrofóbicas, polímeros de enxerto, oligômeros, adsorção de compostos hidrofóbicos etc. (Dufresne, 2019).

A primeira etapa para a síntese de CNCs e CNFs consiste na purificação da celulose, em que há remoção da maior parte dos componentes não celulósicos da fibra natural. Para isso, é realizada extração alcalina seguida de filtração e lavagem com água, para remover polissacarídeos solúveis. Após, o produto lavado é branqueado, sendo que uma das formas de branqueamento consiste em lavagem com solução de clorito de sódio em um meio tampão sob agitação mecânica removendo a maioria das moléculas fenólicas residuais como lignina ou polifenóis e proteínas. Este tratamento induz ao aumento do teor de celulose e diminuição do teor de lignina e hemicelulose no material com consequente diminuição do diâmetro da fibra e aumento do índice de cristalinidade e estabilidade térmica (Dufresne, 2019).

1.2.5.1 Nanofibrilas de celulose

As CNFs (Figura 1.9) são estruturas celulósicas finas (cerca de 4 a 20 nm), longas (cerca de 0,5 a 2 μm) e flexíveis, caracterizadas por arranjos cristalinos alternados de arranjos amorfos (Moon *et al.*, 2011; Zambuzi *et al.*, 2021). O método de obtenção de CNFs consiste na combinação de processos mecânicos e químicos para desfibrilação das macrofibras de celulose (Kelly; Gardner; Gramlich, 2021; Camargos *et al.*, 2022).

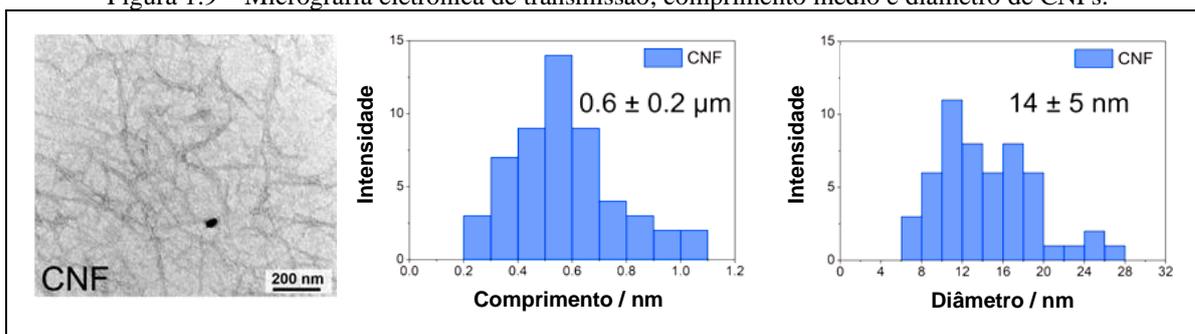
Os tratamentos mecânicos consistem no refinamento das fibras de celulose, com o objetivo de romper a parede celular, para expor as fibrilas (Mariño *et al.*, 2015). Dentre os possíveis processos de extração, são reportados pela literatura a utilização do homogeneizador de alta pressão, microfluidizador, moador de fricção ultrafina, moagem de bolas, crioesmagem, eletrofiação, ultrassonificador de alta intensidade, refinadora de dupla rosca, dentre outros (Lavoine *et al.*, 2012; Radhawa *et al.*, 2022).

A hidrólise enzimática, oxidação mediada por 2,2,6,6-tetrametil-piperidi-1-oxil (TEMPO) e carboximetilação/ acetilação são métodos químicos mais utilizados para a extração de CNFs (Lavoine *et al.*, 2012). Esses métodos são utilizados a fim de serem obtidas fibras menos rígidas e coesas, diminuindo a energia necessária para fibrilação por meio da limitação de ligações de hidrogênio, adição de cargas repulsivas, diminuição do grau de polimerização, e/ou ligação amorfa entre as nanofibrilas individuais (Lavoine *et al.*, 2012).

Em relação ao uso do TEMPO para mediar o processo de oxidação, hidroxilas primárias C₆ são regioselectivamente convertidas em grupos carboxilato, aumentando a repulsão eletrostática e favorecendo a fibrilação de celulose durante a etapa mecânica subsequente. Os grupos carboxila promovem carga negativa na superfície das CNFs, tornando os sistemas estáveis e com alta viscoelasticidade (Mariño *et al.*, 2015; Rol *et al.*, 2019; Calle-Gil; Castillo-

Martínez; Carretero-González, 2022; Cheng *et al.*, 2022). Portanto, há um aumento da área específica externa das nanofibrilas, permitindo um maior número de ligações entre os grupos hidroxila, a diminuição dos poros e o aumentando da densidade, transparência, capacidade de retenção de água e viscosidade do material (Missoum; Belgacen; Bras, 2013; Zanol *et al.*, 2020).

Figura 1.9 – Micrografia eletrônica de transmissão, comprimento médio e diâmetro de CNFs.



Fonte: Reproduzido, com pequenas modificações, de Zambuzi, G. C. *et al.* Modulating the controlled release of hydroxychloroquine mobilized on pectin films through film-forming pH and incorporation of nanocellulose, v. 2, p. 100140, *Copyright* (2021), com permissão da Elsevier.

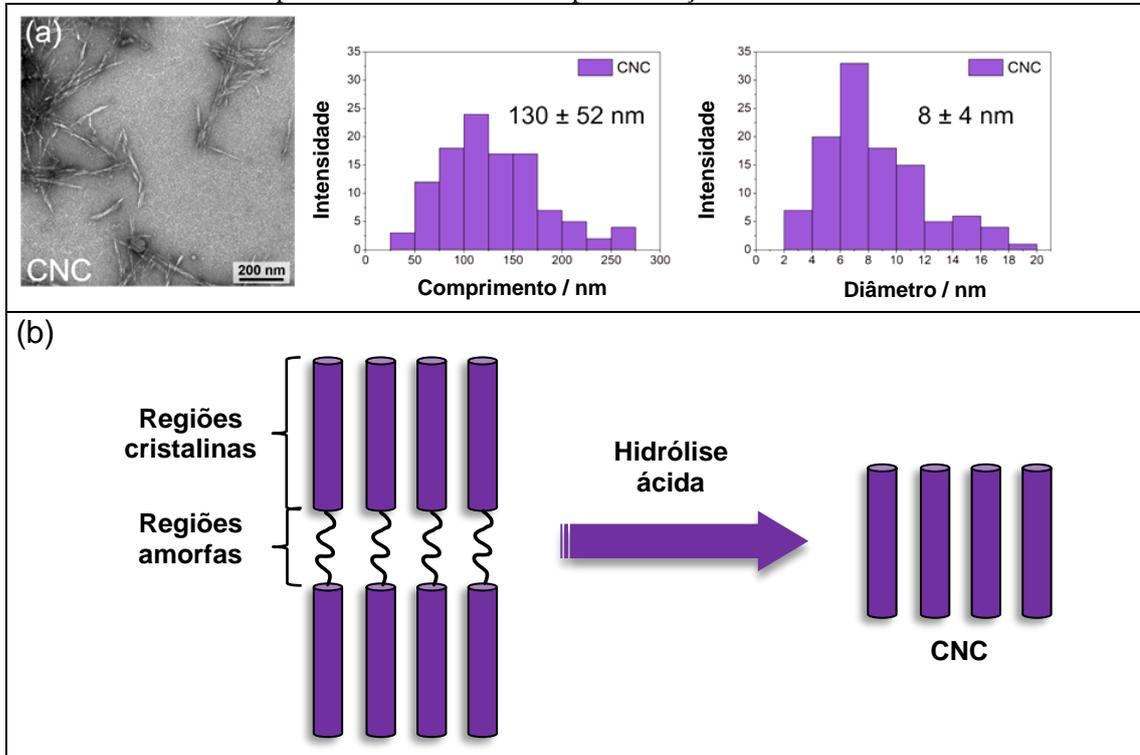
1.2.5.2 Nanocristais de celulose

Os CNCs são estruturas curtas (com comprimento entre 100 e 200 nm, largura variando de 8 a 40 nm) compostas por domínios cristalinos que lhes conferem alta rigidez, baixa densidade e ótimas propriedades mecânicas (Moon *et al.*, 2011; Nascimento; Rezende, 2018; Zambuzi *et al.*, 2021; Cheng *et al.*, 2022). São comumente obtidos através do processo de hidrólise ácida que compreende, preferencialmente, a clivagem das ligações glicosídeas com consequente degradação das regiões amorfas das cadeias de celulose. De forma que, as regiões cristalinas, insolúveis em meio ácido, estarão isoladas no final do processo, dando origem a nanocristais (Pereira *et al.*, 2014; Mariño; Rezende; Tasic, 2018; Nascimento; Rezende, 2018; Yang *et al.*, 2021). A Figura 1.10 apresenta a morfologia e processo de obtenção dos CNCs.

Para esse processo, o ácido sulfúrico (H_2SO_4) é amplamente utilizado, seguindo processos de diluição, lavagem e centrifugação (Beck-Candanedo; Roman; Gray, 2005; Machado *et al.*, 2012). Vale ressaltar que o tamanho dos CNCs depende de fatores como concentração, tempo de reação, temperatura e a fonte da celulose utilizada (Silva *et al.*, 2009) e a química de superfície varia conforme a natureza do ácido utilizado na hidrólise (Dufresne, 2019). No caso da utilização de H_2SO_4 , será proporcionada a esterificação dos grupos hidroxilas presentes na estrutura da celulose através dos grupos sulfatos, introduzindo grupos éster-sulfato na superfície dos CNCs (Pereira *et al.*, 2014). A esterificação promove uma carga superficial

negativa e, devido a forças de repulsão, a suspensão será mais estável (Silva *et al.*, 2009; Lu; Hsieh, 2010; Machado *et al.*, 2012).

Figura 1.10 – (a) Micrografia eletrônica de transmissão, comprimento e diâmetro de CNCs e (b) esquema do processo de hidrólise ácida para obtenção dos nanocristais.



Fonte: (a) Reproduzido, com pequenas modificações, de Zambuzi, G. C. *et al.* Modulating the controlled release of hydroxychloroquine mobilized on pectin films through film-forming pH and incorporation of nanocellulose, v. 2, p. 100140, *Copyright* (2021), com permissão da Elsevier. (b) Autoria própria (2024).

Adaptado de Pereira *et al.* (2014).

Outros ácidos como o bromídrico, fórmico e fosfórico também podem ser utilizados, de forma a produzir CNCs com modificações em sua superfície. Por exemplo, o ácido fosfórico ou uma combinação de ácido cítrico/clorídrico podem ser utilizados para obtenção de superfícies ricas em fosfato e carboxilato, respectivamente (Camargos; Rezende, 2021). Ademais, os diferentes ácidos utilizados no processo e sua concentração, o tempo de reação, a temperatura e a fonte da celulose podem interferir na morfologia e o tamanho dos CNCs (Silva *et al.*, 2009).

1.2.5.3 Aplicações dos nanomateriais de celulose

A produção industrial das nanoceluloses vem aumentando rapidamente, uma vez que substituem materiais sintéticos ou petroquímicos e melhoram a pegada ambiental de muitas

empresas (Dufresne, 2019). Ademais, esses nanomateriais são capazes de aprimorar propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e reológicas quando incorporados a outros materiais (Machado *et al.*, 2012).

Nanopartículas de celulose são efetivas na descontaminação de efluentes (Abozeid *et al.*, 2019) quando utilizadas como adsorvente (Chen *et al.*, 2021a), filtro (Sehaqui *et al.*, 2018) e membrana (Hoi-Fang Tan; Ooi; Leo, 2020), devido, dentre outras propriedades, a presença de sítios ativos que permitem a incorporação de grupos funcionais e aumentam a eficiência de ligação de poluentes à superfície (Sehaqui, 2018). A elevada área superficial, flexibilidade (CNFs), cristalinidade (CNCs) e quantidade de grupos hidroxila influenciam as interações das nanoceluloses com outras substâncias, seja como suspensão em líquido, seja como filme. Portanto, independentemente da origem da suspensão, em um ambiente aquoso, as nanoceluloses possuem propriedades reológicas específicas que podem ser estudadas e utilizadas como aditivos em diversas aplicações (Lavoine *et al.*, 2012).

Na indústria alimentícia, tanto CNCs quanto CNFs apresentaram boas propriedades funcionais para atuação como fibra alimentar (Andrade *et al.*, 2015) e puderam ser usadas como modificadores reológicos para desenvolver complexos isolados de proteína de soja (Sun *et al.*, 2015). Esses nanomateriais também foram efetivos na substituição de gordura quando associadas a goma xantana, mesmo em baixas concentrações de nanocelulose (Aaen *et al.*, 2019). Na indústria de cosméticos, puderam atuar como espessante e estabilizante, de forma a melhorar o desempenho e rendimento de reagentes/ingredientes, além de apresentar variabilidade de condições físico-químicas, podendo ser aplicadas como reforço de embalagens impedindo a oxidação dos alimentos (Lengowski; Junior, 2019).

Em relação a indústria farmacêutica, estudos apontam a capacidade das nanoceluloses em formar sistemas para uso como hidrogéis (King *et al.*, 2022; Phan *et al.*, 2022), nanogéis e nanocompósitos (Das; Ghosh; Sarkar, 2022), sendo promissoras para uso como plataformas de liberação controlada ingredientes farmacêuticos ativos (Anirudhan; Manjusha; Chithra Sekhar, 2021) e fármacos (Xu *et al.*, 2022), a partir da modulação de pH e temperatura.

Recentemente, Zambuzi *et al.* (2021) demonstraram que as nanoceluloses puderam auxiliar na liberação modificada de hidroxicloroquina em matriz de pectina. Os autores constataram que, principalmente os CNCs, retardaram a liberação do fármaco, prolongando a liberação do mesmo em meio aquoso. Além disso, Ferreira *et al.* (2024) puderam notar que microfibras eletrofiadas de zeína/hidroxipropilmetilcelulose sob a influência das CNFs mostraram-se promissoras para modulação da liberação controlada de metronidazol e benzoato

de metronidazol. Dessa forma, nanopartículas de celulose obtidas a partir de recursos abundantes e biodegradáveis possuem grande potencial para utilização no tratamento de doenças, como câncer, através do uso em quimioterapia por exemplo (Lizundia *et al.*, 2020; Yusefi *et al.*, 2020; Do *et al.*, 2021; Khojastehfa; Mahjoub, 2021).

1.2.6 Reologia

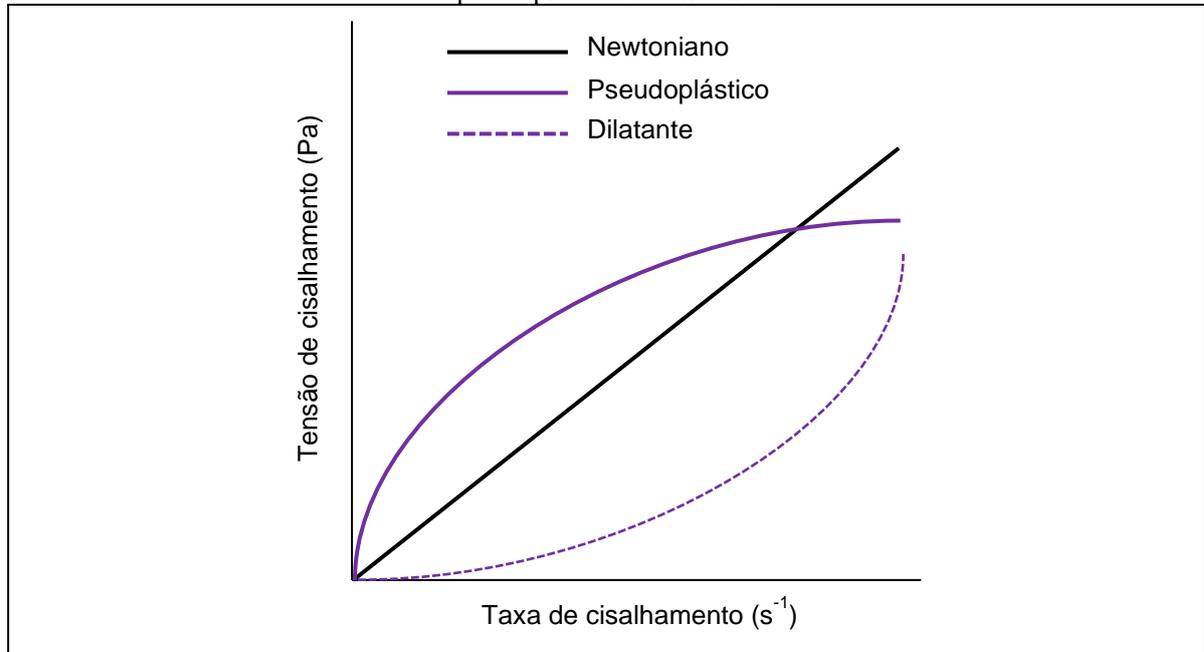
A ciência que estuda a deformação e o fluxo de materiais é chamada de reologia e a relação entre a deformação e a tensão aplicada é característica para cada material (Barnes; Hutton; Walters, 1993). Para um sistema que se comporta idealmente como um sólido, segue-se a lei de Hooke, $\tau = G\gamma$, onde τ é a tensão aplicada, γ é a deformação e G é o módulo de rigidez do material, ou seja, o material apresenta propriedades elásticas (Macosko, 1994; De Gennes, 1990). No caso de um fluido puramente viscoso, ou chamados fluidos Newtonianos, a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento segue a relação da 2ª Lei de Newton, $\tau = \dot{\gamma}\eta$, onde $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento e η é a viscosidade aparente ou de cisalhamento (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994). Entretanto, a maioria dos sistemas reais apresentam ambas as propriedades elásticas e viscosas, sendo chamados de materiais viscoelásticos.

Em ensaios reológicos realizados no modo rotacional, curvas de fluxo e resistência a tensão de cisalhamento são obtidas por ensaios de fluência e permitem observar como η varia conforme a variação de $\dot{\gamma}$. Essas curvas são representadas por τ ou η em função de $\dot{\gamma}$ e permitem diferenciar o comportamento de fluidos Newtonianos de materiais não-Newtonianos (Barnes; Hutton; Walters, 1993). A relação entre taxa de cisalhamento e tensão de cisalhamento é diferente para sistemas distintos, como exemplificado na Figura 1.11. Para fluidos Newtonianos observa-se uma linearidade entre τ e $\dot{\gamma}$, sendo que a constante de proporcionalidade em relação a essas duas grandezas representa a viscosidade do fluido e não varia conforme o aumento da taxa de cisalhamento (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Holmberg *et al.*, 2002b).

Em fluidos não-Newtonianos dois fenômenos importantes podem ser observados: (a) *shear thinning*, característico dos chamados fluidos pseudoplásticos, quando os valores de η diminuem conforme o aumento da taxa de cisalhamento devido a uma menor resistência das partículas em relação ao fluxo, proporcionada pelo rearranjo e alinhamento delas no sistema e (b) *shear thickening*, para fluidos dilatantes, em que os valores de η aumentam com a taxa de cisalhamento, provavelmente devido a agregação entre as partículas do sistema ou

aprisionamento da fase líquida entre os agregados (Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000; Holmberg *et al.*, 2002b).

Figura 1.11 - Diferentes relações entre tensão e taxa de cisalhamento. O gráfico apresenta o comportamento de fluidos Newtonianos (—) e não-Newtonianos (—), estes os quais podem ser classificados como pseudoplásticos ou dilatantes.



Fonte: Autoria própria (2024).

A diferenciação das propriedades reológicas de um sistema viscoelástico de outro será a magnitude dos parâmetros G e η . O Modelo de Maxwell (Equação 1) é o mais apropriado para ser utilizado e considera que o fluido apresenta propriedades elásticas (fluido viscoelástico) (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000):

$$\frac{d\gamma}{dt} = \frac{1}{G} \frac{d\tau}{dt} + \frac{\tau}{\eta} \quad (\text{Equação 1})$$

Ou seja, a parte elástica do material se deformará instantaneamente até um valor limite e a parte viscosa se deformará com o tempo. Ao cessar a tensão, a parte viscosa não retornará ao estado inicial, enquanto a parte elástica retornará. Isso significa que parte da energia aplicada ao sistema será perdida. Assim, vários ensaios podem ser feitos para analisar os sistemas e obter os parâmetros reológicos (tempo de relaxação, módulo no platô, módulo elástico, módulo viscoso, frequência), sendo os ensaios de fluência e oscilatórios os mais indicados para os sistemas contendo fluidos viscoelásticos.

Os parâmetros reológicos, G' (módulo de armazenamento ou elasticidade) e G'' (módulo de perda ou viscosidade), descritos pelas Equações 2 e 3 (Modelo de Maxwell) são obtidos por ensaios dinâmicos no modo oscilatório.

$$G' = \frac{G_0 \omega^2 \tau_R^2}{1 + \omega^2 \tau_R^2} \quad (\text{Equação 2})$$

$$G'' = \frac{G_0 \omega \tau_R}{1 + \omega^2 \tau_R^2} \quad (\text{Equação 3})$$

O módulo no platô, G_0 , e o tempo de relaxação, τ_R , podem ser deduzidos, respectivamente, dos valores dos módulos e da frequência do *crossover*, ω_C , no ponto de interseção $G'(\omega_C) = G''(\omega_C) = G_0/2$, e $\omega_C = 1/\tau_R$. O módulo G_0 está relacionado ao número de entrelaçamentos dos agregados numa dada temperatura. Note que o modelo de Maxwell nos dá apenas um único tempo de relaxação τ_R , isso implica que o agregado formado tem uma microestrutura homogênea. Esse modelo relaciona os parâmetros reológicos obtidos com os parâmetros estruturais do agregado (Barnes; Hutton; Walters, 1993). No regime semidiluído não é possível medir o raio de giração, R_G , do agregado, sendo necessário lançar mão da grandeza ξ , chamado de comprimento de correlação, que é a distância entre dois pontos de entrelaçamento e está correlacionado com o módulo de cisalhamento no platô (G_0) pela Equação 4.

$$G_0 = \frac{k_B T}{\xi^3} \sim \phi^v \quad (\text{Equação 4})$$

onde ϕ é a fração volumétrica da estrutura supramolecular, k_B a constante de Boltzmann ($1,38064852 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$) e T a temperatura. O valor do expoente v está relacionado com as interações estabelecidas entre os componentes das fases, principalmente as repulsões eletrostáticas (Cates; Candau, 1990).

Para uma melhor compreensão dos fenômenos relativos à autoagregação de moléculas nas fases, várias técnicas são utilizadas na elucidação da estrutura dos agregados. Os comprimentos característicos das estruturas supramoleculares, R_G , comprimento de persistência l_p e o raio da seção transversal, $R_{g,xs}$, por exemplo, são determinados por medidas de DLS (Zanetti *et al.*, 2019), microscopias eletrônicas (Percebom; Costa, 2019), SANS (Padsala *et al.*, 2021), SAXS (Fan; Wang, 2019), e quando essas técnicas são aliadas a reologia (Jora; Sabadini; Raghavan, 2020), uma descrição completa dos sistemas pode ser obtida (Goodwin; Hughes, 2000; Vergnat *et al.*, 2021).

1.2.7 Tamanho, Estabilidade e Forma dos Agregados

1.2.7.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

A técnica de DLS não é destrutiva e suas medidas permitem determinar a distribuição de tamanho de moléculas e partículas dispersas ou em solução nos sistemas coloidais auto-organizados (Bhattacharjee *et al.*, 2010). Considerando uma partícula esférica, o vetor espalhamento, \mathbf{q} (Equação 5), é relacionado com o tamanho das partículas ou moléculas em suspensão e flutua em função da mudança da posição das mesmas devido ao movimento Browniano, caracterizado pelo movimento aleatório de partículas que são resultados de suas colisões com as moléculas do solvente (Bhattacharjee, 2016).

$$|\mathbf{q}| = \frac{4\pi n_0}{\lambda_0 \sin(\frac{\theta}{2})} \quad (\text{Equação 5})$$

onde θ é o ângulo de espalhamento, n_0 é o índice de refração do solvente e λ_0 é o comprimento de onda no vácuo.

Dessa forma, em tempos curtos tem-se uma alta correlação entre a posição e o ângulo da luz espalhada, e, por consequência, em tempos longos a posição da partícula em relação ao vetor espalhamento perde completamente a correlação (Hassan; Rana; Verma, 2015).

Para determinar o tamanho do agregado por DLS, os resultados dependem da taxa de movimento Browniano que é quantificada pelo coeficiente de difusão translacional, \mathbf{D} . O tamanho hidrodinâmico medido por DLS é definido como o tamanho de uma esfera que difunde na mesma taxa que a partícula que está sendo medida. As equações matemáticas são dependentes de variáveis como η do solvente, instrumento, temperatura, índice de refração do material etc. (Bhattacharjee, 2016). Considerando um raio hidrodinâmico, é possível analisar as flutuações de intensidade que resultam na velocidade do movimento browniano, sendo assim, o tamanho da partícula, ou o diâmetro hidrodinâmico, d_H , pode ser mensurado utilizando a relação de Stokes-Einstein (Equação 6):

$$d_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta D} \quad (\text{Equação 6})$$

1.2.7.2 Potencial zeta (PZ)

PZ é definido como o potencial elétrico no plano de deslizamento/cisalhamento entre camadas carregadas de uma partícula coloidal movendo-se sob um campo elétrico. Caracteriza-se como a medida da magnitude da repulsão/atração eletrostática ou das cargas entre partículas, sendo a diferença de tensão elétrica entre a superfície de cada coloide e sua suspensão líquida ao seu redor no plano de deslizamento um dos parâmetros fundamentais que afetam a

estabilidade (Bhattacharjee, 2016). Nanopartículas de carga superficial positiva ou negativa atraem uma pequena camada de contraíons fortemente unidos na superfície do meio, formando a chamada Camada de Stern (Bhattacharjee, 2016).

Conforme as nanopartículas se movem, um gradiente é criado entre os íons na camada difusa que se movem com a nanopartícula e aqueles que permanecem no meio de dispersão. No interior dessa camada difusa há um limite de distância teórico no qual cada carga elétrica pode ser considerada independente das outras. Esta distância é o plano de deslizamento e o seu potencial elétrico em relação à referência nesse limite é chamado de PZ e está relacionado à carga superficial da nanopartícula (Clogston; Patri, 2011).

O conhecimento sobre as cargas superficiais, bem como a distribuição do tamanho de partículas em sistemas coloidais é importante, uma vez que esses parâmetros afetam, por exemplo, a agregação dessas partículas no meio, a adsorção e dessorção de moléculas de interesse e a atividade dessas partículas dependendo da carga que possuem (Bhattacharjee, 2016; Chen; Dong; Yang, 2020; Disalvo; Frias, 2021). Sendo assim, medidas de PZ são importantes indicadores úteis de carga, podendo ser usadas para prever e controlar a estabilidade de suspensões ou emulsões coloidais e são fundamentais para o entendimento de fenômenos relacionados às interfaces (De Gennes, 1990; Bhattacharjee *et al.*, 2010; Disalvo; Frias, 2021).

Quando a dispersão coloidal apresenta alta carga superficial positiva ou negativa, as nanopartículas tendem a se repelir e formar uma dispersão mais estável, enquanto as partículas com baixa carga superficial tendem a aglomerar e precipitar (Clogston; Patri, 2011). Geralmente, assume-se que valores absolutos de PZ inferiores a 5 mV indicam aglomeração de partículas, valores superiores a 20 mV indicam uma suspensão dispersa, ou seja, baixa interação entre as partículas, enquanto valores superiores a 30 mV indicam suspensões fisicamente estáveis (Selvamani, 2019). Assim, quanto maior PZ, em módulo, mais estável é a suspensão/solução, porque as nanopartículas carregadas se repelem umas às outras e essa força supera a tendência natural à agregação.

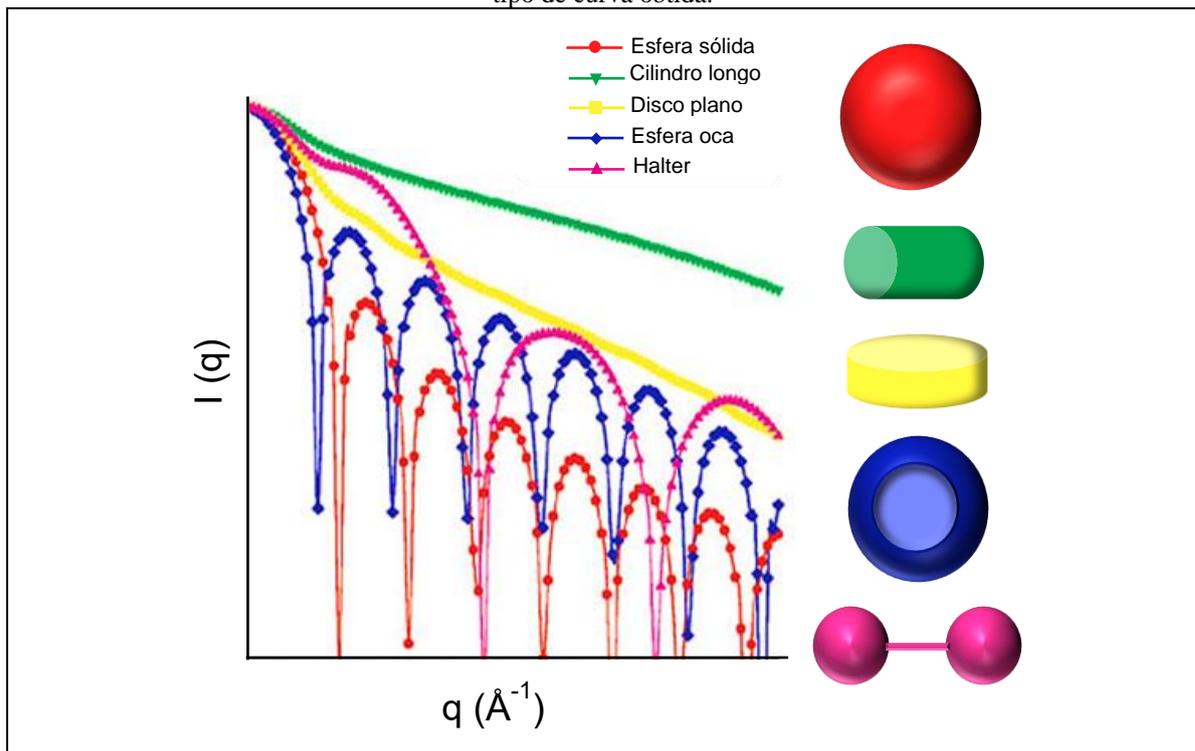
1.2.7.3 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

Nas medidas de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), o vetor espalhamento, \mathbf{q} , tem magnitude $|\mathbf{q}| = \{(4\pi n_0) / [\lambda_0 \sin(\theta/2)]\}$ (Equação 5). Em cada região de \mathbf{q} existe uma dimensão característica do sistema e, para obtermos informações estruturais, é preciso analisar como é a dependência de \mathbf{q} em relação à intensidade do espalhamento em cada região. Para

sistemas contendo micelas gigantes, por exemplo, na região de Porod a curva de espalhamento mostra a dependência característica q^{-2} relativa à cadeia gaussiana em baixos valores de q , em valores intermediários a dependência é de q^{-1} característica de cilindros e para valores altos a dependência q^{-4} se deve à forma da interface esférica da micela (Fang *et al.*, 2022). A Figura 1.12 apresenta um esquema exemplificando algumas diferentes interpretações de morfologias.

Experimentos de SAXS são importantes para estabelecer uma conexão entre os parâmetros obtidos das medidas reológicas e a morfologia dos agregados em solução, uma vez que diferentes proporções entre os constituintes dos sistemas podem gerar uma drástica perda na viscoelasticidade da solução. A mudança no comportamento reológico é uma consequência da variação do tamanho e forma do agregado (Posbeyikian *et al.*, 2021; McDowall; Seddon; Adams, 2022). Esses parâmetros estruturais podem ser obtidos através de ajustes das diferentes curvas de espalhamento usando diferentes modelos em cada região de q .

Figura 1.12 – Representação esquemática dos diferentes tipos de morfologia dos agregados dependendo do tipo de curva obtida.



Fonte: Autoria própria (2024). Reproduzido, com pequenas modificações, de Svergun, D.; Koch, M. H. J. Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution, **Reports on Progress in Physics**, v. 66, p. 1735-1782, Copyright (2003), com permissão da IOP Publishing.

1.3 OBJETIVO E JUSTIFICATIVA

O estudo tem como objetivo investigar o comportamento reológico de autoagregados de sais de bile, a saber NaDC e/ou NaTDC, acima de cmc, na presença de CNCs ou CNFs em diferentes proporções de surfactante e nanocelulose. Ademais, compreender a correlação da reologia com os efeitos estruturais dos agregados e elucidar tamanho, forma, estabilidade coloidal, grau de entrelaçamento e viscoelasticidade, por meio dos parâmetros reológicos associados a medidas de DLS, PZ e SAXS.

O entendimento de como as interações intermoleculares são estabelecidas entre sais de bile/nanocelulose é essencial, visto que são poucos os estudos sobre a interação e estruturação desses agregados. Em adição, diferentes estruturas podem ser formadas por micelas de sais de bile em meio aquoso, as quais podem ser moduladas conforme a adição de diferentes substâncias e as técnicas sugeridas são sofisticadas para entender os parâmetros reológicos aliados a dados estruturais. Portanto, a partir desse trabalho, é possível a criação de novos materiais que se inserem num contexto atual para o desenvolvimento de sistemas visando a aplicação como modificadores reológicos e encapsulação/liberação de moléculas de interesse, importantes para a indústria de cosméticos e farmacêutica e potencial aplicação como carreadores de fármacos.

CAPÍTULO 2

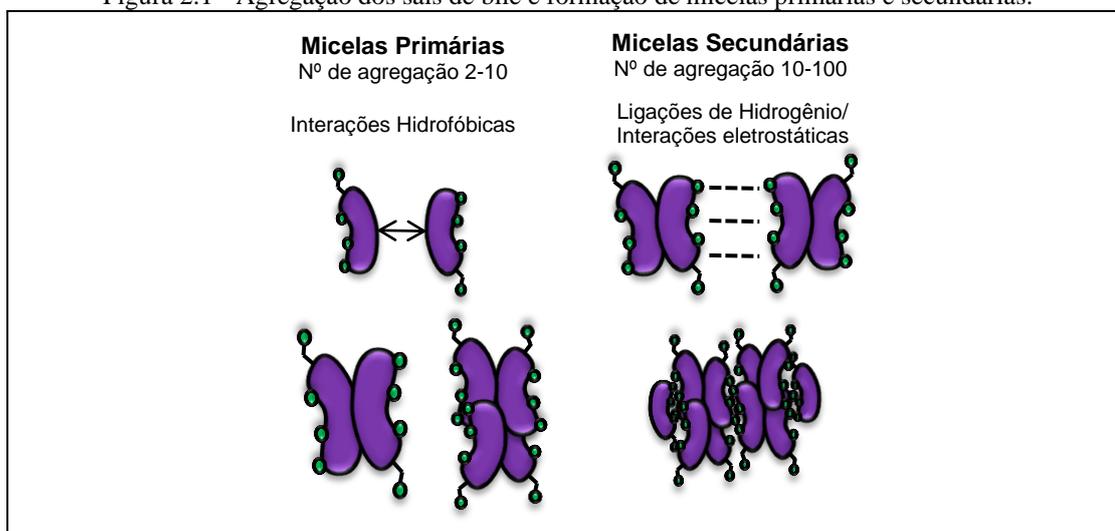
Influência de CNCs ou CNFs na Formação de Agregados de NaDC ou NaTDC

Efeito sobre o tamanho, estabilidade coloidal e reologia dos agregados em meio aquoso

2.1 INTRODUÇÃO

A formação de micelas primárias e secundárias de sais de bile ocorrem em diferentes concentrações dos sais (Sen *et al.*, 2002; Mukherjee *et al.*, 2016; Singh; Chauhan, 2020). A formação é separada por dois estágios: (i) as micelas primárias são formadas por pequenos agregados (número de agregação de 2 a 10 monômeros) dos sais de bile, através de interações hidrofóbicas, em meio aquoso e em concentrações próximas da cmc (3,8 mM para o NaDC e 1,9 mM para o NaTDC, a 20 °C) e (ii) as micelas secundárias (números de agregação de 10–100 monômeros) são formadas pela agregação das micelas primárias por meio de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio (Figura 2.1) (Carey; Small, 1972; Poša; Ćirin, 2012; Moghimipour; Ameri; Handali, 2015; Singh; Chauhan, 2020) sendo que seu tamanho tende a amplificar com o aumento da concentração do sal (Mukherjee *et al.*, 2016).

Figura 2.1 - Agregação dos sais de bile e formação de micelas primárias e secundárias.



Fonte: Autoria própria (2024). Adaptado de Singh; Chauhan (2020), Moghimipour; Ameri; Handali (2015) e Azum; Rub; Asiri (2020).

A literatura tem reportado que as moléculas de sais de bile podem apresentar a formação de micelas secundárias em altas concentrações (acima de 50 mM) (Mukherjee *et al.*, 2016). Neste caso, a agregação de micelas secundárias ocorre em valores superiores a 100 mM e 50 mM para os sais de bile NaDC (Sen *et al.*, 2002) e NaTDC (Li; McGown, 1993), respectivamente. Além disso, a estrutura química incomum dos sais de bile leva à formação de diferentes sistemas automontados que podem influenciar em interações específicas desses sais com diferentes tipos de moléculas e possibilita a utilização dos agregados como importantes modificadores reológicos, a exemplo emulsificantes, e na encapsulação de moléculas de interesse (Macierzanka *et al.*, 2019). Pabois *et al.* (2020) estudaram como a pequena mudança na estrutura molecular dos sais de bile NaTDC e NaTC poderia interferir na digestão de gordura, por meio da interação dos diferentes sais com a metilcelulose. Sendo assim, pequenas mudanças na estrutura química dos sais podem interferir na interação com diferentes substâncias, alterando a morfologia dos agregados e as propriedades reológicas dos sistemas.

2.1.1 *Objetivos Específicos*

Este capítulo tem por objetivos investigar os sistemas aquosos formados por sal de bile com adição de nanocelulose (CNCs ou CNFs) em diferentes concentrações. Os agregados dos diferentes sais de bile, NaDC ou NaTDC, diferem-se estruturalmente pela inserção do grupo taurina nas moléculas do NaTDC. Os estudos serão realizados em diferentes concentrações de sais, acima da cmc a 20 °C e se fundamentarão em valores que envolvam a possível formação tanto de micelas primárias, quanto secundárias. Assim, pretende-se compreender a correlação da viscoelasticidade dos sistemas com os efeitos estruturais dos agregados obtidos e elucidar grau de entrelaçamento, tamanho, estabilidade coloidal e morfologia dos agregados por meio dos parâmetros reológicos aliados a medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial zeta (PZ) e espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), respectivamente.

2.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.2.1 *Material*

Para o preparo dos sistemas foram utilizados os sais de bile NaDC (CAS-No: 302-95-4; Lote VM1022604 219) [414,55 g mol⁻¹] e NaTDC (CAS-No: 1180-95-6; Lote 3878873) [521,70 g mol⁻¹], adquiridos pela Sigma-Aldrich®. Dispersões aquosas de CNC hidrolisado com ácido sulfúrico (AH-CNCs, 0,48% (m/v)) e de CNF oxidada por TEMPO (TO-CNFs, 0,7%

(m/v)) foram utilizadas e sintetizadas a partir de extração de *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) (Camargos; Rezende, 2021). H₂SO₄ 98% (Synth[®]) e TEMPO 98% (Sigma-Aldrich[®]) conferiram a inclusão dos grupos éster-sulfato e carboxilas às estruturas dos AH-CNCs e TO-CNFs, respectivamente (Camargos; Rezende, 2021). As partículas de AH-CNCs possuem comprimento médio de 130 ± 52 nm e 8 ± 4 nm de diâmetro, com uma proporção de aspecto de 23 ± 9 . As TO-CNFs têm $0,6 \pm 0,2$ µm de comprimento médio e 14 ± 5 nm de diâmetro, com uma proporção de aspecto mais alta de 53 ± 18 . As dispersões de AH-CNCs e TO-CNFs possuem valores de potenciais zeta de -41 ± 5 mV e -46 ± 4 mV, respectivamente. As nanoceluloses foram disponibilizadas já sintetizadas, pela Prof.^a Dr.^a Camila Alves Rezende (Instituto de Química, UNICAMP). Todos os reagentes foram utilizados conforme obtidos e todas as dispersões apresentadas nesse trabalho foram feitas utilizando água destilada. Para efeito de organização, como neste trabalho foram utilizados somente um tipo de nanocristal de celulose e nanofibrila de celulose, serão utilizadas as abreviações CNC e CNF, respectivamente.

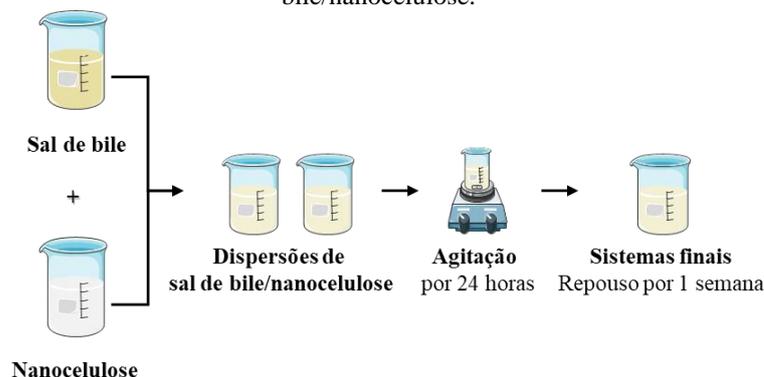
2.2.2 Preparo das Dispersões de Sal de Bile/Nanocelulose

Dispersões aquosas de sal de bile/nanocelulose foram preparadas por meio da mistura de massa de NaDC ou NaTDC acima da cmc à 20 °C (a cmc é aproximadamente 3,8 mM para NaDC e 1,9 mM para NaTDC) (Mukherjee *et al.*, 2016) com 0,0096 g, 0,0240 g ou 0,0480 g de CNC ou CNF à temperatura e pressão ambiente. Os sistemas foram preparados para um volume final de 10 mL de forma que NaDC atingisse as concentrações de 50 mM (0,2070 g) ou 100 mM (0,4145 g) e NaTDC 9,2 mM (0,0480 g) ou 50 mM (0,2608 g) e as nanoceluloses 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹.

Após a adição dos componentes formadores dos sistemas, as amostras foram submetidas a agitação magnética por 24 h¹. Cessando a agitação, todas as amostras foram deixadas em repouso por uma semana, sob condições de temperatura e pressão ambiente, a fim de que fosse atingida a estabilidade coloidal dos sistemas antes de serem submetidas às medidas de caracterização. A Figura 2.2 apresenta a esquematização do preparo das amostras.

¹ O passo a passo do preparo das dispersões pode ser visualizado em: <https://youtu.be/cytA-J_5yXs>.

Figura 2.2 - Ilustração esquemática do método de preparação dos sistemas de sal de bile/nanocelulose.



Fonte: Autoria própria (2024).

2.2.3 Métodos

2.2.3.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta (PZ)

A distribuição de tamanho de partículas dispersas foi analisada por DLS e a estabilidade coloidal das dispersões preparadas foi avaliada por meio de medidas de PZ. As medidas foram feitas utilizando o equipamento Zetasizer[®] Nanoseries modelo NanoZS90 (Malvern Instruments Inc.), equipado com laser HeNe de potência 4 mW e $\lambda_0 = 633$ nm, disponibilizado pelo Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR) no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) (Proposta: 20231846). As amostras foram acondicionadas em cubetas de quartzo para pequenos volumes (modelo ZEN2112), para as medidas de DLS e em célula capilar descartável (modelo DTS1070), própria para a análise de PZ. Todas as análises de DLS e PZ foram realizadas em triplicata e a 25,0 °C. Os resultados médios das medidas de distribuição de tamanho de partículas e PZ foram obtidos pelo Zetasizer[®] software, oficial do equipamento.

Dados estatísticos das medidas de tamanho de partículas e PZ foram analisados por ANOVA utilizando análise unidirecional (concentração de nanocelulose) e com diferença significativa de 5% ($p < 0,05$). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%. Os cálculos foram realizados pelo software Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, EUA).

2.2.3.2 Reologia

Os ensaios de dinâmica e as curvas de fluxo foram realizados em equipamento Haake RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific Inc.). A temperatura dos experimentos foi controlada por um banho termostático externo (Haake F6/8 - Thermo Fisher Scientific Inc.), com precisão de 0,01 °C, e as medidas foram feitas à 25,00 °C. O sistema de geometria utilizado foi o Z20

Din Ti ou configuração de placas paralelas (rotor PP35 Ti e base P61 com 60 mm de diâmetro). O *gap* foi mantido a 1,0 mm para ambas as geometrias. Todos os experimentos oscilatórios foram conduzidos dentro da região de viscoelasticidade linear que é determinada por medidas de varreduras dinâmicas de tensão 0,1-10 Pa a 1Hz. As varreduras de frequência dinâmica foram realizadas na faixa de 0,01–100 Hz mantendo-se $\tau = 0,40$ Pa (que foi determinado pela varredura dinâmica de tensão). Também foram medidas as curvas de fluxo das amostras com variação da taxa de cisalhamento entre 0,01 e 200 s^{-1} .

2.2.3.3 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

As amostras foram acondicionadas em celas capilares de vidro e seladas com resina. As medidas de SAXS foram feitas utilizando o equipamento Xenocs Xeuss 2.0 com a fonte de raios-X GeniX 3D com alvos de cobre ($\sim 5,4$ keV), além do detector Dectris Pilatus 300k. Os espectros de espalhamento foram corrigidos por leituras da cela vazia e cela com *buffer* de água, conforme procedimento padrão a fim de avaliar a intensidade do feixe gerado. Os ajustes dos perfis de espalhamento foram realizados usando os programas de ajustes e o *software* Origin[®] (OriginLab Corporation). O equipamento foi disponibilizado em parceria com o Grupo de Fluidos Complexos (GFCx) pelo Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto Oliveira (IF-USP).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que os agregados de sais de bile podem ter suas estruturas moduladas conforme a interação com outras substâncias (Sun *et al.*, 2014; Zhang, H. *et al.*, 2021), foram obtidos sistemas com 9,2 mM de NaTDC e 4,80 g L⁻¹ de nanoceluloses. A concentração de NaTDC neste caso é cerca de 5 vezes superior do que a cmc a 20 °C e garante a formação micelas primárias em dispersão (Mukherjee *et al.*, 2016). Além disso, é válido o estudo envolvendo o aumento da concentração de surfactante em dispersão, a fim de se analisar o comportamento reológico de autoagregados formados pela nanocelulose e micelas secundárias de NaTDC (50 mM), bem como a utilização de nanoceluloses nas mesmas concentrações previamente estabelecidas.

Ademais, mudanças na estrutura molecular dos sais de bile podem interferir na estruturação dos agregados (Pabois *et al.*, 2020) por meio de diferentes interações intermoleculares com as diferentes nanoceluloses, levando a mudanças em relação ao tamanho de partículas, estabilidade coloidal, morfologia dos agregados e, conseqüentemente,

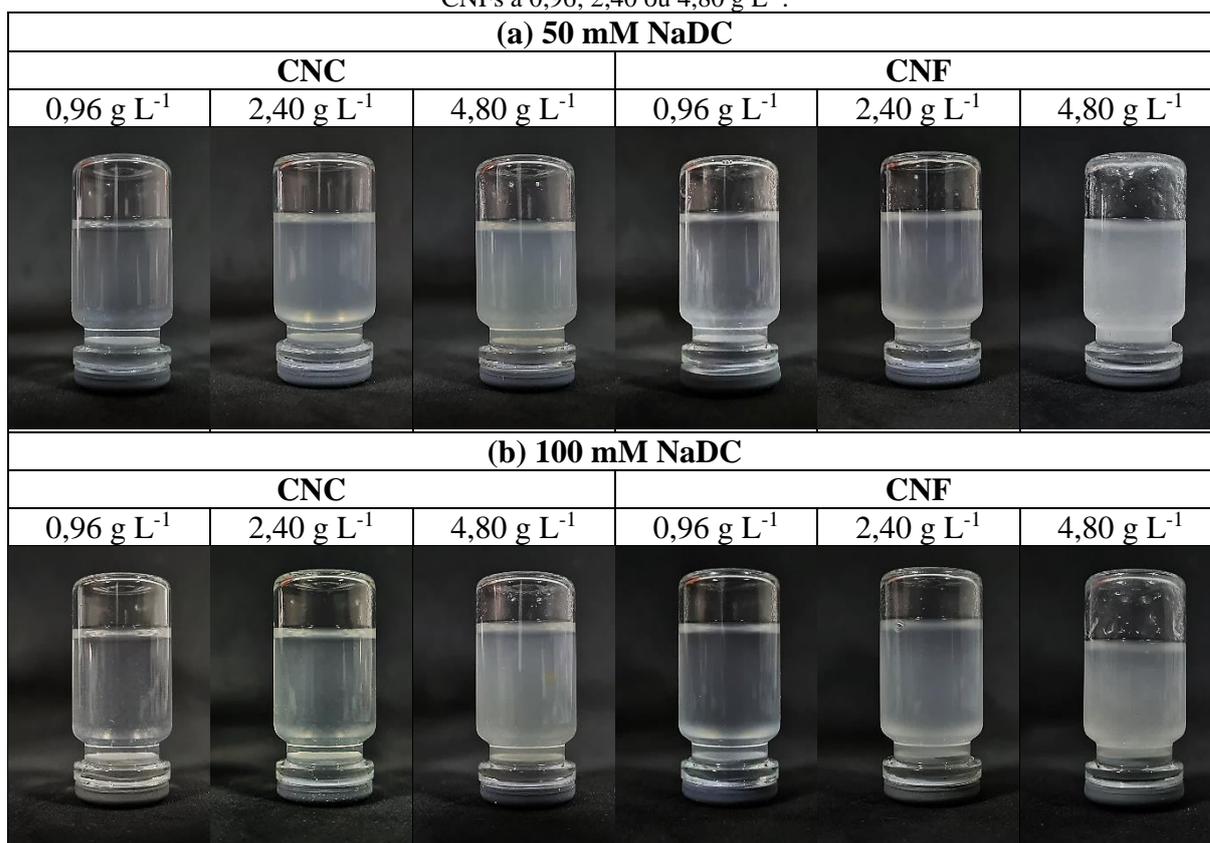
interferindo nas propriedades reológicas dos sistemas. Assim análises envolvendo a autoagregação de micelas primárias (50 mM) e secundárias (100 mM) de NaDC também foram realizadas, mantendo-se as três concentrações de nanoceluloses. Os resultados são apresentados a seguir.

2.3.1 Influência da Nanocelulose em Autoagregados de NaDC

2.3.1.1 Análise visual dos sistemas formados

A Figura 2.3 apresenta as fotografias dos sistemas de 50 mM ou 100 mM de NaDC contendo CNCs ou CNFs nas diferentes concentrações estudadas. Para efeito de comparação, as fotografias das soluções de surfactantes e dispersões controle das nanoceluloses estão apresentadas nas Figuras A1 e A2, respectivamente (Apêndice A).

Figura 2.3 - Fotografias das dispersões finais de (a) 50 mM ou (b) 100 mM de NaDC misturadas com CNCs ou CNFs a 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Nota-se a formação de dispersões visualmente homogêneas e que o aumento da concentração de NaDC de 50 mM para 100 mM aparentemente não interferiu na homogeneidade dos sistemas. O aumento da concentração de CNCs ou CNFs levou a formação

de dispersões visualmente mais turvas, para ambas as concentrações de sal de bile, acompanhando o que foi observado com as dispersões controle das nanoceluloses (Figura A2). Em maior concentração de CNFs ($4,80 \text{ g L}^{-1}$), para as duas concentrações de sal de bile, há certa aderência das dispersões no frasco, sugerindo maior viscosidade em relação às demais dispersões (dados a serem confirmados nas análises de reologia).

2.3.1.2 Efeito da nanocelulose sobre a distribuição do tamanho das partículas

As dispersões preparadas pela mistura de NaDC/nanocelulose foram avaliadas quanto ao efeito das diferentes concentrações de sal de bile e CNC ou CNF no tamanho dos agregados formados. A Tabela 2.1 apresenta a média aritmética ponderada das diferentes populações obtidas nas curvas de distribuição de tamanho de partículas para as soluções de NaDC e dispersões de NaDC/nanocelulose, variando a concentração de sal de bile, CNC ou CNF.

Tabela 2.1 – Valores dos tamanhos de partícula, x , obtidos para as soluções de 50 ou 100 mM de NaDC e após a adição de CNC ou CNF ($0,96$; $2,40$ ou $4,80 \text{ g L}^{-1}$), acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

50 mM NaDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho $0,5 < x \leq 100 \text{ nm}$	Tamanho $101 < x \leq 650 \text{ nm}$	Tamanho $x > 651 \text{ nm}$
<i>50 mM NaDC</i>	1,455 nm – 10% ⁱ	153,9 nm – 22% ^{ghi}	742,8 nm – 68% ^{abc}
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	—	208,5 nm – 25% ^{efghi}	863,5 nm – 75% ^{ab}
<i>2,40 g L⁻¹ CNC</i>	38,65 nm – 13% ⁱ	386,4 nm – 87% ^{defg}	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNC</i>	12,85 nm – 4,0% ⁱ 64,12 nm – 18% ^{hi}	470,4 nm – 78% ^{cdef}	—
<i>0,96 g L⁻¹ CNF</i>	2,928 nm – 2,0% ⁱ 6,006 nm – 5,0% ⁱ 11,77 nm – 6,0% ⁱ	142,8 nm – 28% ^{ghi} 231,1 nm – 59% ^{efghi}	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNF</i>	86,45 nm - 16% ^{hi}	491,4 nm - 84% ^{cde}	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNF</i>	—	127,8 nm - 19% ^{ghi} 596,1 nm – 81% ^{abcd}	—
100 mM NaDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho $0,5 < x \leq 100 \text{ nm}$	Tamanho $101 < x \leq 650 \text{ nm}$	Tamanho $x > 651 \text{ nm}$
<i>100 mM NaDC</i>	1,396 nm – 35% ⁱ	—	882,7 nm – 65% ^a
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	2,330 nm – 14% ⁱ 11,74 nm – 10% ⁱ	151,8 nm – 50% ^{ghi}	—

	38,73 nm – 26% ⁱ		
2,40 g L ⁻¹ CNC	2,020 nm - 9% ⁱ	215,9 nm - 80% ^{efghi}	—
	12,24 nm - 11% ⁱ		
4,80 g L ⁻¹ CNC	1,730 nm – 6,0% ⁱ	135,6 nm - 25% ^{ghi}	—
	3,590 nm – 7,0% ⁱ		
	5,822 nm – 4,0% ⁱ		
0,96 g L ⁻¹ CNF	27,53 nm – 9,0% ⁱ	178,4 nm – 60% ^{fghi}	—
	1,260 nm – 7,0% ⁱ		
2,40 g L ⁻¹ CNF	60,34 nm – 2,0% ^{hi}	575,3 nm – 31% ^{bcd}	—
	34,97 nm – 6,0% ⁱ		
4,80 g L ⁻¹ CNF	40,70 nm – 2,0% ⁱ	543,2 nm - 91% ^{cd}	—
	75,33 nm – 7,0% ^{hi}		

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

Os dados mostraram uma distribuição de diâmetro dos agregados formados por NaDC/nanocelulose com diferentes tamanhos, variando entre pequenas (0,5-100 nm), médias (101-650 nm) ou grandes partículas (> 651 nm). Este resultado sugere a formação de diferentes tipos de agregados entre o surfactante e as nanoceluloses (Hassan; Rana; Verma, 2015). A maioria desses agregados estão entre 101 e 650 nm, exceto para as soluções puras de surfactante e o sistema de 50 mM de NaDC com 0,96 g L⁻¹ de CNC, nos quais grandes agregados com tamanho acima de 651 nm foram observados devido a formação de micelas secundárias de NaDC (Sen *et al.*, 2002; Mukherjee *et al.*, 2016). Neste caso, a baixa disponibilidade de CNCs (0,96 g L⁻¹) no meio não é suficiente para quebrar as micelas secundárias de NaDC em agregados menores, como ocorre para os sistemas contendo maior concentração de CNCs e os sistemas formados por CNFs. Dessa forma, os dados de tamanho de partícula sugeriram que há duas etapas de formação dos agregados a serem consideradas: (i) adição de altas concentrações de CNC (acima de 2,40 g L⁻¹) e adição de CNFs, levaram a quebras das micelas secundárias de NaDC e (ii) o incremento das partículas de nanocelulose (2,40 g L⁻¹ a 4,80 g L⁻¹ de CNC e 0,96 g L⁻¹ a 4,80 g L⁻¹ de CNF) levou ao aumento do tamanho desses novos agregados formados, sendo os maiores formados por CNFs, apresentando um tamanho de cerca de 200 nm superior ao que foi observado para os sistemas NaDC/CNC. Ademais, diferentemente do que foi observado para os CNCs, os sistemas formados por 100 mM NaDC com CNF apresentaram menor número de populações de tamanho, o que pode ser explicado pela maior carga e área superficial das CNFs, contribuindo para uma maior interação com as micelas de NaDC (Missoum; Belgacen; Bras, 2013; Mariño *et al.*, 2015).

2.3.1.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaDC/nanocelulose

As amostras de NaDC/nanocelulose tiveram seus potenciais elétricos medidos e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Valores de PZ para as soluções de 50 mM e 100 mM de NaDC e dispersões de NaDC/nanocelulose nas diferentes concentrações de CNC ou CNF.

NaDC				
Nanocelulose (g L ⁻¹)	PZ (mV)			
	50 mM		100 mM	
	PZ = -28,5 ± 2,9 ^{ab}		PZ = -20,7 ± 3,0 ^a	
	NaDC/CNC	NaDC/CNF	NaDC/CNC	NaDC/CNF
0,96	-40,7 ± 3,8 ^{bcdef}	-45,2 ± 1,5 ^{def}	-25,1 ± 2,2 ^a	-39,2 ± 1,9 ^{bcde}
2,40	-41,6 ± 7,8 ^{bcdef}	-53,4 ± 6,3 ^f	-32,1 ± 3,2 ^{abc}	-39,2 ± 2,9 ^{bcde}
4,80	-53,2 ± 0,60 ^f	-46,8 ± 8,9 ^{ef}	-43,1 ± 5,0 ^{cdef}	-32,9 ± 0,52 ^{abcd}

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

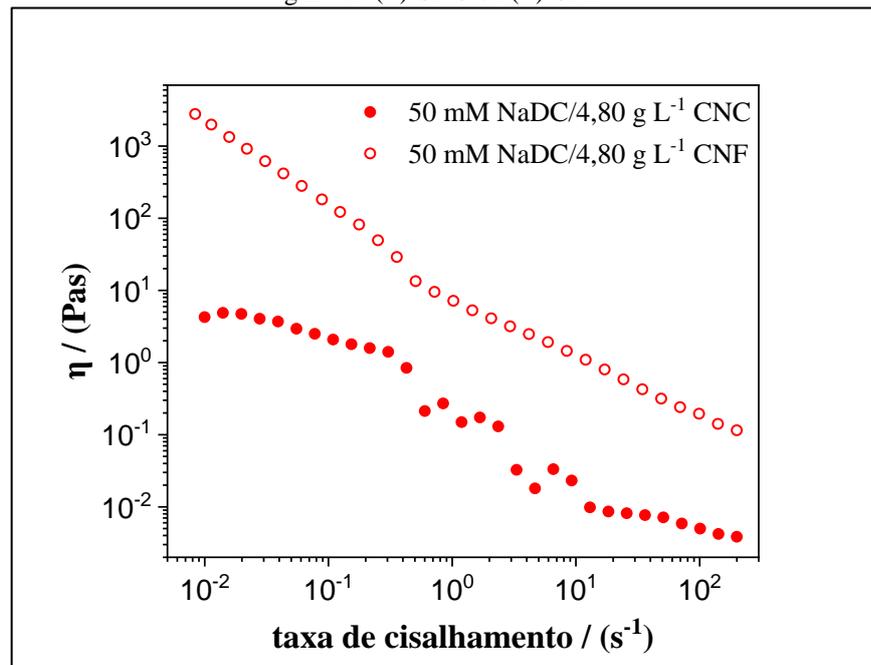
Os valores de PZ para todas as dispersões de NaDC/nanocelulose tornaram-se mais negativos do que a solução de surfactante e maiores que 30 mV em módulo, exceto para o sistema de 100 mM de NaDC com CNC a 0,96 g L⁻¹. Os valores absolutos maiores do que 30 mV indicam que a adição de nanopartículas de celulose aumentou a estabilidade dos agregados formados (Selvamani, 2019). Ademais, os valores de PZ se tornam mais negativos com o incremento de CNCs, indicando que o aumento na concentração da nanopartícula contribuiu para a repulsão dos agregados em suspensão e estabilidade coloidal. Entretanto, o acréscimo de CNFs não alterou de forma significativa os valores de PZ. Neste caso, os potenciais elétricos estão praticamente dentro da mesma faixa de valores, sugerindo que, independentemente da variação de concentração das CNFs, as dispersões se encontram em situação similar de estabilidade coloidal (Chen; Dong; Yang, 2020; Camargos; Rezende, 2021; Radhawa *et al.*, 2022).

O aumento na concentração do surfactante de 50 mM para 100 mM levou a formação de sistemas menos estáveis, possivelmente devido a uma maior formação das micelas secundárias em 100 mM de NaDC (Sen *et al.*, 2002; Mukherjee *et al.*, 2016), contribuindo para a formação de sistemas com partículas menos carregadas e mais blindadas eletricamente e, conseqüentemente, apresentando menor estabilidade coloidal. Esse fenômeno pode ter sido influenciado pela menor distribuição de tamanho de partículas e certa tendência a aglomeração dos agregados nas amostras contendo maior concentração do surfactante (Clogston; Patri, 2011).

2.1.3.4 Análise reológica das dispersões de NaDC/nanocelulose

Todos os sistemas de NaDC/nanocelulose estudados apresentaram os fenômenos de *shear thinning* (comportamento pseudoplástico), *shear thickening* (comportamento dilatante), ou uma combinação entre os dois, ou seja, esses sistemas são fluidos não-Newtonianos. A Figura 2.4 mostra uma curva de fluxo típica de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento ($\eta \times \dot{\gamma}$) de NaDC/nanocelulose e na Figura 3C (Apêndice C), encontram-se as curvas de fluxo para os demais sistemas estudados. Em geral, as curvas de fluxo dos sistemas de NaDC/CNF apresentaram um maior alinhamento dos agregados em relação as amostras contendo CNCs. O fenômeno de *shear thickening* foi observado em taxas de cisalhamento entre 0,3 e 10 s^{-1} , sendo mais pronunciado nos sistemas contendo menor concentração de nanocelulose (0,96 $g L^{-1}$) (Figura 3C).

Figura 2.4 – Curva de fluxo ($\eta \times \dot{\gamma}$) para o sistema de 50 mM de NaDC com 4,80 $g L^{-1}$ de (●) CNC ou (○) CNF.



Fonte: Autoria própria (2024).

O fenômeno de *shear thinning* se refere ao alinhamento dos agregados devido à tensão aplicada e anisotropia dos sistemas sendo mais pronunciado em baixas taxas de cisalhamento (Goodwin; Hughes, 2000; Disalvo; Frias, 2021). O fenômeno de *shear thickening* geralmente é observado em médias e altas taxas de cisalhamento, onde são observadas oscilações nos valores de η com o aumento de $\dot{\gamma}$, geralmente associadas com a formação de estruturas

altamente birrefringentes induzidas pelo cisalhamento (*shear bands*) (De Gennes, 1990; Cates; Candau, 1990; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000; Disalvo; Frias, 2021).

Como uma medida da estruturação dos sistemas, a viscosidade de repouso (η_0) é obtida no limite de taxa de cisalhamento tendendo a zero e está relacionada com o tamanho da estrutura autoagregada e densidade de entrelaçamentos (Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020). A Tabela 2.3 contém os valores de η_0 obtidos para os sistemas de NaDC/nanocelulose em diferentes proporções de NaDC, CNCs e CNFs.

Tabela 2.3 – Valores de η_0 para as soluções de 50 mM e 100 mM de NaDC, dispersões de CNC ou CNF nas diferentes concentrações (0,96; 2,40 e 4,80 g L⁻¹) e NaDC/nanocelulose.

		NaDC				
		50 mM NaDC		100 mM NaDC		
		$\eta_0 = 0,1765$ (Pas)		$\eta_0 = 0,1929$ (Pas)		
g L ⁻¹	Nanocelulose		NaDC/CNC	NaDC/CNF	NaDC/CNC	NaDC/CNF
	CNC	CNF	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)
0,96	0,00511	0,0130	0,3190	98,73	0,09720	11,68
2,40	0,0593	0,2414	0,4006	484,7	0,5395	82,75
4,80	0,0747	0,1544	4,255	1993	0,9248	2073

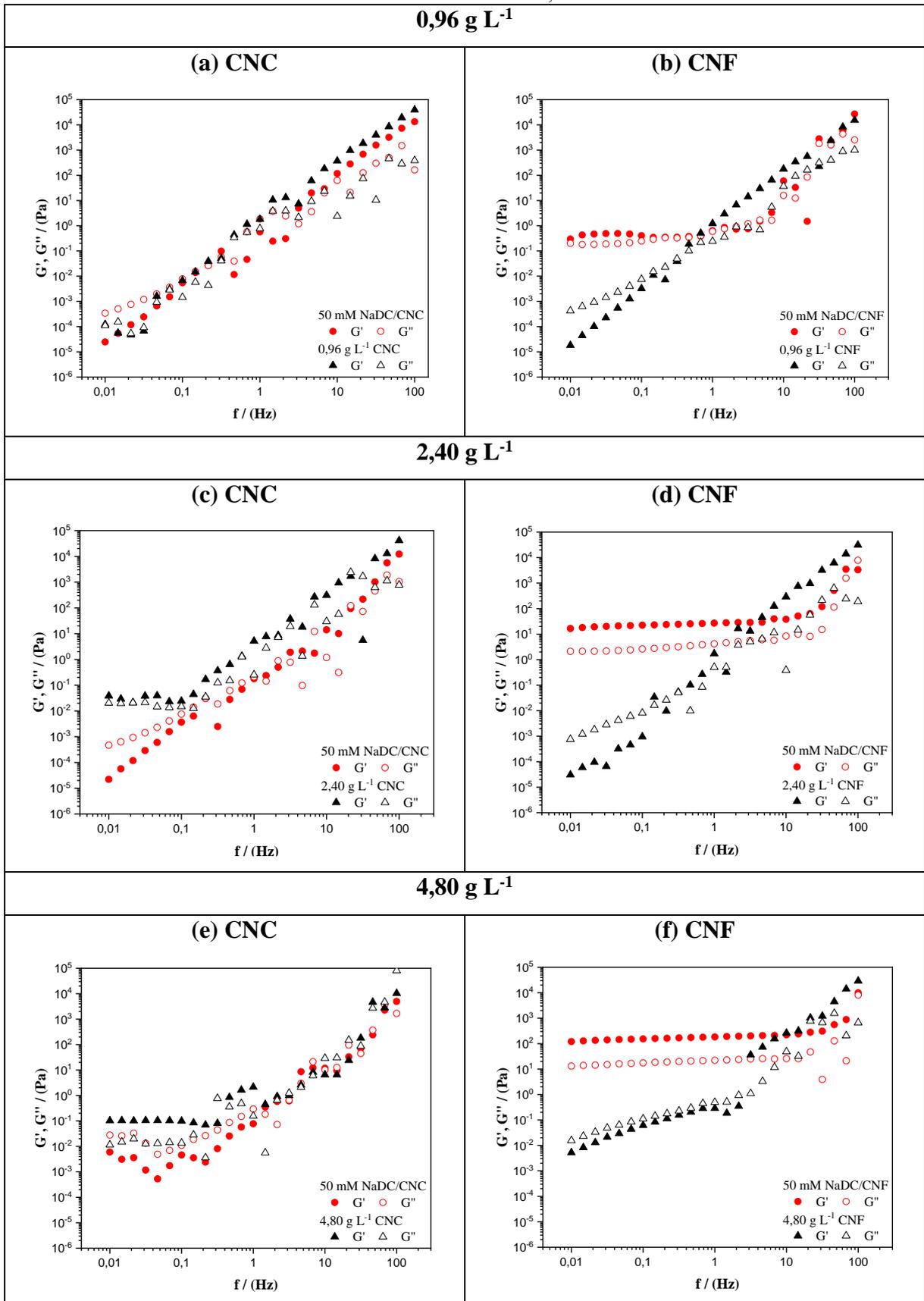
Fonte: Autoria própria (2024).

Todos os sistemas contendo NaDC/nanocelulose apresentaram valores de η_0 superiores aos obtidos para as soluções de NaDC, sugerindo a formação de sistemas mais estruturados do que as soluções do surfactante, exceto para a amostra contendo NaDC a 100 mM e CNC a 0,96 g L⁻¹ (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020). O aumento na concentração de CNFs de 0,96 g L⁻¹ para 4,80 g L⁻¹ na mistura de NaDC/CNF contribuiu para uma maior estruturação dos sistemas, tendo em vista o significativo aumento dos valores de η_0 (cerca de 20 e 177 vezes para os sistemas contendo NaDC a 50 mM e 100 mM de NaDC, respectivamente). Este fenômeno indica que os entrelaçamentos em NaDC/CNF são favorecidos e o regime de concentração é o semidiluído (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020). Isso corrobora com o fato de que os entrelaçamentos dos agregados em NaDC/CNF são mais fortes do que em NaDC/CNC, independentemente da proporção estabelecida entre sal de bile e nanocelulose. Estes resultados estão de acordo com a análise visual dos sistemas, em que o sistema de contendo CNFs são mais turvos e apresentam maior aderência ao recipiente (Figura 2.3).

A hipótese geral é que o aumento da concentração das CNFs, levou a uma maior disponibilidade da nanocelulose para interagir com o sal de bile, favorecendo a formação de agregados maiores (aumento no tamanho das partículas) e mais entrelaçados (aumento nos valores de η_0). Este resultado implica que os sistemas contendo CNFs estão mais estruturados em comparação com os sistemas formados por CNCs, indicando que diferentes estruturas foram formadas alterando-se a nanopartícula de celulose. Nesse sentido, o fenômeno de *shear thinning* é um indicativo da formação de diferentes estruturas, uma vez que é mais pronunciado nos sistemas de NaDC/CNF devido ao maior comprimento, carga superficial e menor rigidez das CNFs em relação aos CNCs (Missoum; Belgacem; Bras, 2013; Kelly; Gardner; Gramlich, 2021; Cheng *et al.*, 2022), o que favorece a interação com o sal de bile e facilita o alongamento das estruturas no primeiro caso (Chu; Dreiss; Feng, 2013).

A Figura 2.5 mostra o comportamento dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') em função da frequência (f) para as dispersões de nanocelulose e NaDC/nanocelulose nas diferentes concentrações de CNCs ou CNFs estudadas. O ensaio para as soluções do sal de bile está presente na Figura 1C (Apêndice C) e essas amostras não apresentaram viscoelasticidade.

Figura 2.5 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaDC/nanocelulose (●) contendo CNCs ou CNFs a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.



Fonte: Autoria própria (2024).

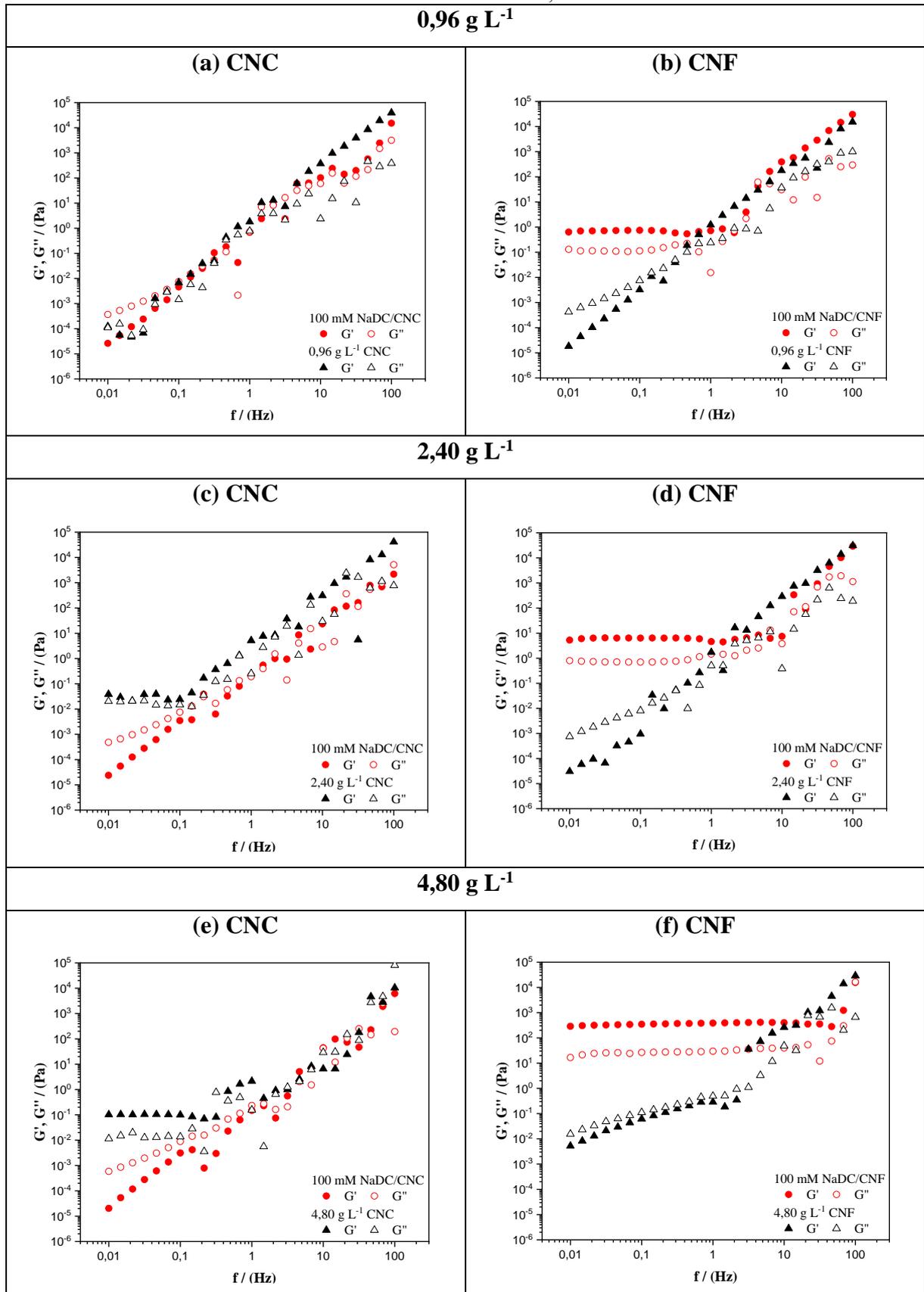
Os ensaios de varredura de frequência mostraram que os sistemas formados por NaDC/CNC são poucos viscoelásticos, de forma que o módulo G'' predomina sobre o módulo G' em toda a faixa de frequência estudada. De fato, as amostras contendo o sal de bile na presença de CNC são menos viscoelásticas do que as dispersões de CNC puro, como observado em outros trabalhos utilizando essas nanopartículas (Mariño *et al.*, 2015; Aaen *et al.*, 2019). Entretanto, para os sistemas formados por NaDC/CNF têm-se a formação de dispersões viscoelásticas, considerando que G' é maior que G'' em ampla faixa de frequência e que o incremento de CNFs aumenta a viscoelasticidade das amostras. Em geral, as curvas de G' e G'' para as dispersões de CNF pura se assemelham a de polímeros e micelas gigantes, onde G'' é maior que G' em baixas frequências, e G' é maior que G'' em altas frequências. Para os sistemas contendo NaDC na presença das CNFs, as curvas se assemelham a de géis uma vez que os módulos G' e G'' são independentes da frequência de oscilação numa ampla faixa ($10^{-2} < \text{Hz} < 10^1$) (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000).

Ainda, a força do gel é maior com o aumento da concentração da nanopartícula, isto é, os valores de G' aumentam com a concentração de CNF (Francisco *et al.*, 2010). Este resultado corrobora com o fato de que partículas com grandes comprimentos e com diâmetros na escala nanométrica (CNFs) aumentam a viscoelasticidade de sistemas em comparação com sistemas contendo partículas nanométricas mais curtas (CNCs), independente da composição química das mesmas (Aaen *et al.*, 2019; Dufresne, 2019; Wang *et al.*, 2022).

Embora os agregados de NaDC/CNC tenham uma estrutura mais alongada quando comparada à micela de NaDC puro, eles encontram-se no regime de concentração diluído, em que não se observam entrelaçamentos entre os agregados, ocasionando, assim, a diminuição da viscoelasticidade em comparação com as dispersões controle de CNCs (Cates; Candau, 1990; Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994). Porém, para os sistemas de NaDC/CNF estruturas mais longas do que as de NaDC/CNC são formadas, facilitando o entrelaçamento entre elas e provocando um aumento na viscoelasticidade dos sistemas (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Francisco *et al.*, 2010; Chu; Dreiss; Feng, 2013; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020; Disalvo; Frias, 2021). Para os sistemas contendo CNFs, os agregados encontram-se em regime semidiluído, em que ocorrem entrelaçamentos entre as espécies do sal de bile e nanofibrilas de celulose (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Chu; Dreiss; Feng, 2013; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020).

A Figura 2.6 apresenta os resultados observados para as amostras de 100 mM de NaDC sob a influência de CNC ou CNF.

Figura 2.6 - Ensaio dinâmico das dispersões de 100 mM NaDC/nanocelulose (●) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.

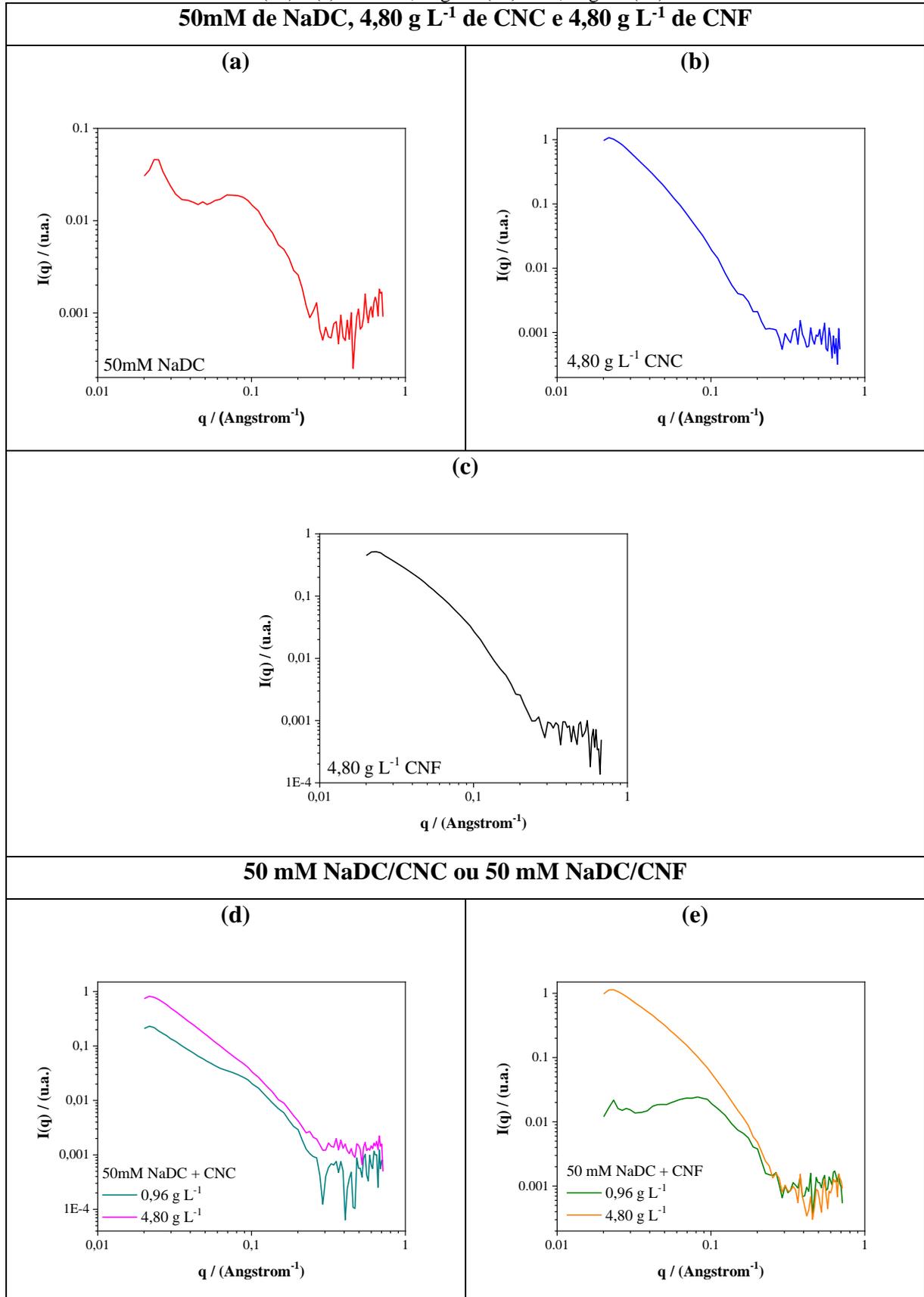


O incremento da concentração de NaDC de 50 para 100 mM na presença das nanoceluloses não alterou significativamente a viscoelasticidade dos sistemas, ou seja, as amostras contendo CNFs são mais viscoelásticas e estruturadas do que as análogas contendo CNCs, sendo o módulo G' ligeiramente superior a 100mM de NaDC em comparação com os sistemas contendo uma menor concentração do sal.

2.1.3.5 Análise de SAXS dos agregados de NaDC/nanocelulose

Uma vez que não foram observadas diferenças significativas no comportamento reológico das amostras em função do aumento da concentração do sal, medidas de SAXS foram realizadas para as amostras contendo 50 mM do sal de bile. A Figura 2.7 mostra as curvas obtidas para os sistemas puros e as dispersões de NaDC/nanocelulose.

Figura 2.7 - Comparação de curvas SAXS: (a) solução de 50 mM de NaDC (—); (b) 4,80 g L⁻¹ de CNCs (—); (c) 4,80 g L⁻¹ de CNFs (—) e dispersões de NaDC/nanocelulose variando (d) CNC a 0,96 g L⁻¹ (—) ou 4,80 g L⁻¹ (—) e (e) CNF a 0,96 g L⁻¹ (—) ou 4,80 g L⁻¹ (—).



Fonte: Autoria própria (2024).

A solução de 50 mM NaDC exibiu picos de difração em 0,0249, 0,0751 e 0,2031 \AA^{-1} , o que corresponde às distâncias de 25,2, 8,3 e 3,1 nm, respectivamente, indicando que a maior parte das micelas de NaDC em meio aquoso são alongadas. Estes valores estão de acordo com os valores reportados por Jover *et al.* (2021), em que os autores observaram a formação de agregados cilíndricos de NaDC em água com seção transversal elíptica de 3,2 nm \times 6,0 nm. As curvas de SAXS para partículas de CNCs e CNFs apresentaram pequenos picos de difração em 0,0229 e 0,0218 \AA^{-1} , respectivamente (distâncias de 27,4 nm para o CNC e 28,8 nm para a CNF), indicando que as nanoceluloses são alongadas.

As curvas de SAXS mostraram que o aumento na concentração das nanopartículas de celulose (CNCs ou CNFs) de 0,96 g L⁻¹ para 4,80 g L⁻¹ aumentaram a intensidade do vetor de espalhamento, I(q). Todas as curvas de SAXS das amostras de NaDC/nanocelulose apresentaram um pico pequeno em aproximadamente 0,0219 \AA^{-1} (distância de 28,7 nm). A curva de espalhamento para a amostra contendo 0,96 g L⁻¹ de CNC apresentou picos de difração em altos valores de q, semelhante às curvas de espalhamento para curtos agregados cilíndricos ocios (Jover *et al.*, 2021). Ademais, a amostra contendo 0,96 g L⁻¹ de CNF apresentou outros picos de difração em baixos valores de q, a saber em 0,0283, 0,0434 e 0,0842 \AA^{-1} , o que corresponde às distâncias de 22,2, 14,5 e 7,5 nm, respectivamente, e podem estar relacionadas com a distribuição de tamanho do diâmetro das nanofibrilas como observado por imagens de TEM (Figura 1.9).

Além disso, as curvas SAXS, em valores baixos de q, exibiram comportamento linear, característico do decaimento da lei de potência da intensidade de espalhamento ($I(q) \propto q^\alpha$). As inclinações dessas regiões lineares corresponderam aos valores de alfa (α) de -3,2 para a solução de NaDC, e α igual a -3,0 e -2,6 para as dispersões puras de CNC e CNF, respectivamente. Os valores de α para a amostra de 50 mM NaDC com 0,96 g L⁻¹ e 4,80 g L⁻¹ CNC foi -2,9 e -2,2, respectivamente, indicando que os agregados de NaDC/CNC são mais alongados dos que as micelas de NaDC e as partículas de nanocristal em meio aquoso. A amostra contendo NaDC com 0,96 g L⁻¹ e 4,80 g L⁻¹ CNF apresentou os valores de α iguais à -2,11 e -1,91, respectivamente. Este resultado sugere que os agregados formados por NaDC/CNF tem predominância de morfologias cilíndricas e lamelares (Jover *et al.*, 2021; McDowall; Seddon; Adams, 2022).

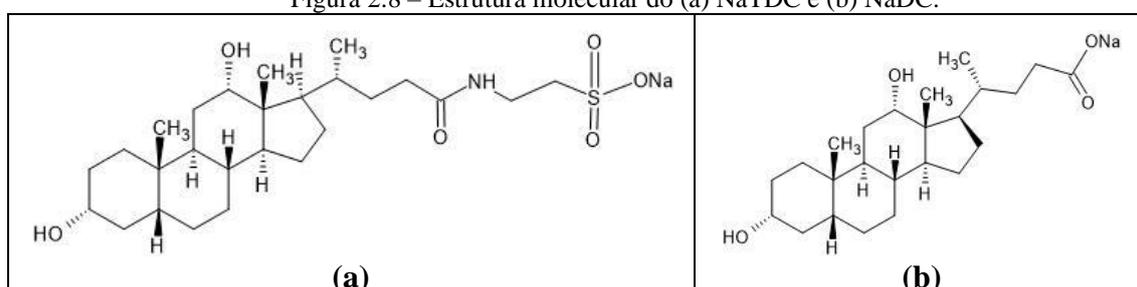
De fato, um valor alfa (α) entre $-3 < \alpha < -1$ é esperado para nano-objetos bidimensionais orientados aleatoriamente em um sistema bifásico, nos quais objetos com valores de α mais próximos de -1, -2 e -4 são considerados cilíndricos, lamelares e esféricos, respectivamente

(McDowall; Seddon; Adams, 2022; Jover *et al.*, 2021). Domínios com $-3 < \alpha < -4$ estão correlacionados com partículas distribuídas como uma grande dimensão fractal (Jover *et al.*, 2021; McDowall; Seddon; Adams, 2022). De forma geral, os dados de SAXS mostraram que os agregados de NaDC/CNF são mais alongados e mais próximos a estruturas cilíndricas do que os agregados de NaDC/CNC, que são mais lamelares a esféricos. Os agregados cilíndricos de NaDC/CNF promovem alto grau de entrelaçamento entre eles, conferindo uma alta viscoelasticidade aos sistemas como observado pelas curvas reológicas características de géis.

2.3.2 Influência da nanocelulose em autoagregados de NaTDC

O NaTDC diferencia-se do NaDC pelo grupo do aminoácido taurina em sua estrutura (Figura 2.8). Mudanças na estrutura molecular dos sais de bile permitem diferentes interações com a nanocelulose e mudanças em relação ao tamanho de partículas, estabilidade coloidal e morfologia dos agregados, interferindo nas propriedades reológicas dos sistemas. Assim, os resultados a seguir trarão o estudo para os agregados de NaTDC/nanocelulose.

Figura 2.8 – Estrutura molecular do (a) NaTDC e (b) NaDC.

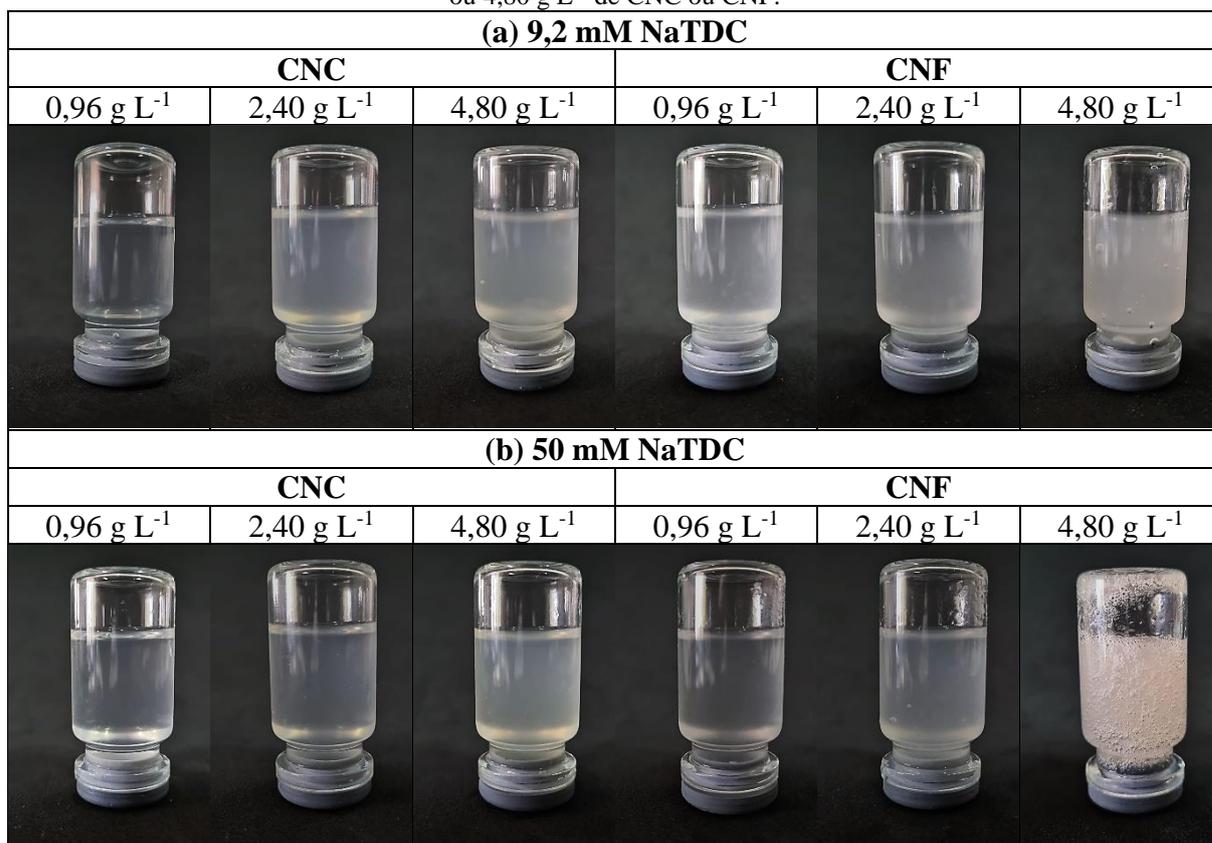


Fonte: Autoria própria (2024).

2.3.2.1 Análise visual dos sistemas de NaTDC/nanocelulose

Na Figura 2.9 estão as fotografias dos sistemas de NaTDC a 9,2 mM ou 50 mM contendo nanocelulose nas diferentes concentrações estudadas. As soluções de surfactantes e dispersões controle de CNCs ou CNFs têm as fotografias apresentadas nas Figuras A1 e A2 (Apêndice A), respectivamente.

Figura 2.9 - Fotografias das dispersões finais de 9,2 mM (a) ou 50 mM (b) de NaTDC misturadas com 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹ de CNC ou CNF.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

O incremento de CNCs ou CNFs para os sistemas de ambas as concentrações de NaTDC, levou a formação de sistemas mais turvos. Os sistemas contendo CNFs são mais opacos do que os que contém CNCs. Todas as dispersões apresentaram aparência homogênea. Em 50 mM de NaTDC e CNF a 4,80 g L⁻¹, o sistema é visualmente mais viscoso (a ser confirmado com os dados de reologia) devido à maior aderência ao frasco e a formação mais evidente de bolhas presas quando o sistema é agitado.

2.3.2.2 Efeito da nanocelulose sobre o tamanho de partículas

Na Tabela 2.4 são apresentadas as medidas obtidas para as amostras de NaTDC/nanocelulose, variando a concentração de sal de bile em 9,2 ou 50 mM e CNC ou CNF em 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹.

Tabela 2.4 – Valores dos tamanhos de partícula, x , obtidos para as soluções de 9,2 ou 50 mM de NaTDC e após a adição de CNC ou CNF (0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹), acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

9,2 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho 0,5 < x ≤ 100 nm	Tamanho 101 < x ≤ 650 nm	Tamanho x > 651 nm
9,2 mM NaTDC	—	472,9 nm - 100% ^{defgh}	—
0,96 g L ⁻¹ CNC	—	231,6 nm - 100% ^{fgh}	—
2,40 g L ⁻¹ CNC	75,39 nm - 12% ^h	583,6 nm - 88% ^{defgh}	—
4,80 g L ⁻¹ CNC	—	188,3 nm - 25% ^{gh}	1209 nm - 75% ^{cde}
0,96 g L ⁻¹ CNF	92,97 nm - 29% ^{gh}	614,7 nm - 71% ^{defgh}	—
2,40 g L ⁻¹ CNF	43,56 nm - 8,0% ^h	168,4 nm - 43% ^{gh}	1030 nm - 49% ^{cdefg}
4,80 g L ⁻¹ CNF	32,52 nm - 4,0% ^h	156,0 nm - 35% ^{gh}	1751 nm - 61% ^{bc}
50 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho 0,5 < x ≤ 100 nm	Tamanho 101 < x ≤ 650 nm	Tamanho x > 651 nm
50 mM NaTDC	1,054 nm - 29% ^h	328,4 nm - 50% ^{efgh} 432,4 nm - 21% ^{defgh}	—
0,96 g L ⁻¹ CNC	57,82 nm - 2% ^h	—	1158 nm - 98% ^{cdef}
2,40 g L ⁻¹ CNC	—	123,4 nm - 14% ^{gh}	1795 nm - 86% ^{bc}
4,80 g L ⁻¹ CNC	—	—	2454 nm - 100% ^{ab}
0,96 g L ⁻¹ CNF	—	—	2938 nm - 100% ^a
2,40 g L ⁻¹ CNF	58,80 nm - 7% ^h	—	1340 nm - 29% ^{cd} 2804 nm - 64% ^a
4,80 g L ⁻¹ CNF	—	113,7 nm - 10% ^{gh}	1780 nm - 66% ^{bc} 3344 nm - 24% ^a

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

Os sistemas de NaTDC/nanocelulose também apresentaram partículas variando entre pequenas, médias ou grandes. Os dados de tamanho de partícula sugerem que o aumento da concentração da solução de NaTDC de 9,2 mM para 50 mM não levou à formação de micelas secundárias nas soluções, uma vez que foram encontradas partículas de mesmo tamanho em ambas as concentrações do surfactante. Entretanto, em 50 mM de NaTDC, foram observadas micelas menores, sugerindo uma maior disponibilidade das moléculas do sal de bile em solução, podendo ocasionar a formação de diferentes agregados quando misturados com as nanoceluloses nesta concentração.

De modo geral, a adição das nanopartículas levou ao aumento do tamanho de agregados para todos os sistemas, exceto para o sistema formado por 50 mM NaTDC/0,96 g L⁻¹ CNC. De mesmo modo, o incremento na concentração do surfactante de 9,2 mM para 50 mM na presença das partículas de nanocelulose também levou ao aumento do tamanho das partículas e a formação de novas populações com tamanhos diferentes, sugerindo uma mistura de diferentes estruturas nesses sistemas. Os sistemas contendo 4,80 g.L⁻¹ de CNF diferem-se nesse comportamento, porque apresentam o mesmo valor do tamanho de partículas para ambas as concentrações do sal. Nesse caso, a maior carga superficial das CNFs pode ter contribuído para a quebra dos autoagregados de NaTDC, diferentemente do que foi observado para o sistema contendo CNCs, onde os nanocristais podem ter contribuído para a agregação das micelas do sal de bile.

2.3.2.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaTDC/nanocelulose

A Tabela 2.5 apresenta os valores de PZ para as dispersões de NaTDC contendo nanopartículas de celulose. Os potenciais elétricos tornaram-se mais negativos do que aqueles obtidos para as soluções do surfactante. Ou seja, a adição de CNCs ou CNFs contribuiu para o aumento da estabilidade dos agregados formados. Todos os sistemas apresentaram valores de PZ negativos menores do que -35 mV, o que sugere que as dispersões são fisicamente estáveis (Clogston; Patri, 2011; Bhattacharjee, 2016; Selvamani, 2019) e condiz com a homogeneidade observada para os sistemas coloidais obtidos (Figura 2.8).

Tabela 2.5 – Valores de PZ para as soluções de 9,2 mM e 50 mM de NaTDC e dispersões de NaTDC/nanocelulose nas diferentes concentrações de CNC ou CNF.

NaTDC				
Nanocelulose (g L ⁻¹)	PZ (mV)			
	9,2 mM		50 mM	
	NaTDC/CNC	NaTDC/CNF	NaTDC/CNC	NaTDC/CNF
0,96	-46,7 ± 3,0 ^{bc}	-43,3 ± 2,3 ^{ab}	-35,5 ± 4,0 ^{ab}	-47,6 ± 6,3 ^{bc}
2,40	-50,7 ± 8,0 ^{bcd}	-44,9 ± 1,2 ^{bc}	-38,2 ± 4,8 ^{ab}	-54,2 ± 7,2 ^{bcd}
4,80	-47,6 ± 5,5 ^{bc}	-62,9 ± 2,8 ^{cd}	-52,5 ± 1,1 ^{bcd}	-68,0 ± 16,9 ^d

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

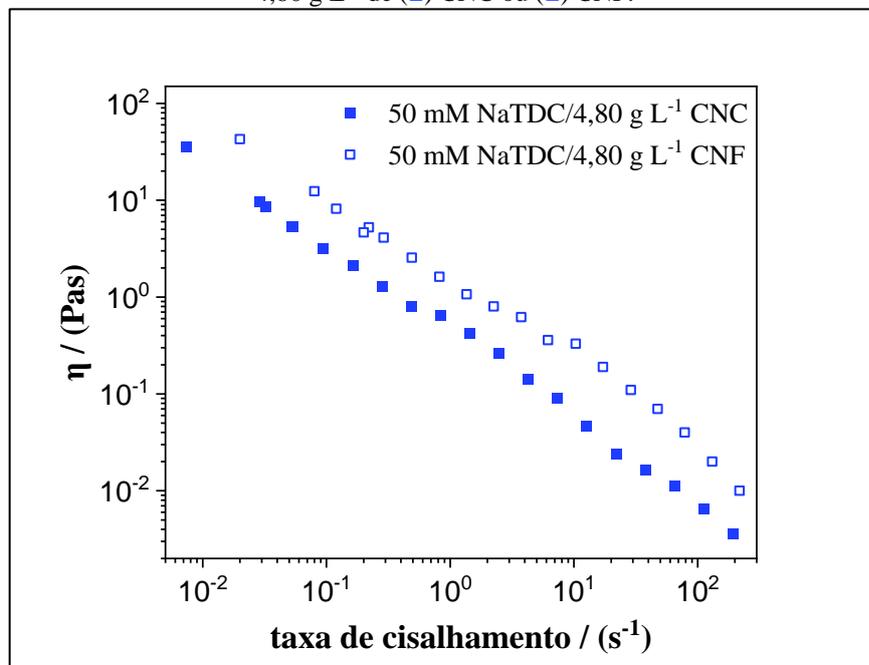
Em geral, o incremento de nanocelulose alterou de maneira mais significativa os valores de PZ para as amostras contendo CNFs, tornando-os mais negativos. As amostras contendo

CNCs, apresentaram valores mais negativos com o aumento da concentração de nanopartículas, porém os valores não apresentam grandes diferenças estatisticamente. Ademais, o teste Tukey mostrou que o aumento da concentração de surfactante não alterou de forma significativa a estabilidade coloidal dos agregados, visto que os sistemas compartilham pelo menos uma letra. A adição de 0,96 ou 2,40 g L⁻¹ de CNC às soluções de 50 mM do sal levou a formação de agregados com os menores valores absolutos de PZ, indicando que as partículas apresentaram uma menor carga superficial, embora estáveis (Chen; Dong; Yang, 2020; Camargos; Rezende, 2021; Radhawa *et al.*, 2022).

2.3.2.4 Análise reológica das dispersões de NaTDC/nanocelulose

Os sistemas de NaTDC/nanocelulose apresentaram o fenômeno de *shear thinning* e *shear thickening*, assim como os sistemas de NaDC/nanocelulose (Chu; Dreiss; Feng, 2013). Na Figura 2.10 observa-se uma curva de fluxo típica ($\eta \times \dot{\gamma}$) dos sistemas de NaTDC/nanocelulose e, na Figura 4C (Apêndice C), encontram-se as curvas de fluxo para os demais sistemas estudados. Todos os sistemas de NaTDC/CNF apresentaram o fenômeno de *shear thinning* mais pronunciado em relação aos sistemas NaTDC/CNC.

Figura 2.10 – Curva de fluxo ($\eta \times \dot{\gamma}$) para o sistema de 50 mM de NaTDC com 4,80 g L⁻¹ de (■) CNC ou (□) CNF.



Fonte: Autoria própria (2024).

A Tabela 2.6 contém os valores de η_0 obtidos para os sistemas de NaTDC/nanocelulose em diferentes proporções de NaTDC e CNC ou CNF.

Tabela 2.6 – Valores de η_0 para as soluções de 9,2 mM e 50 mM de NaTDC, dispersões de CNC ou CNF nas diferentes concentrações (0,96; 2,40 e 4,80 g L⁻¹) e NaTDC/nanocelulose.

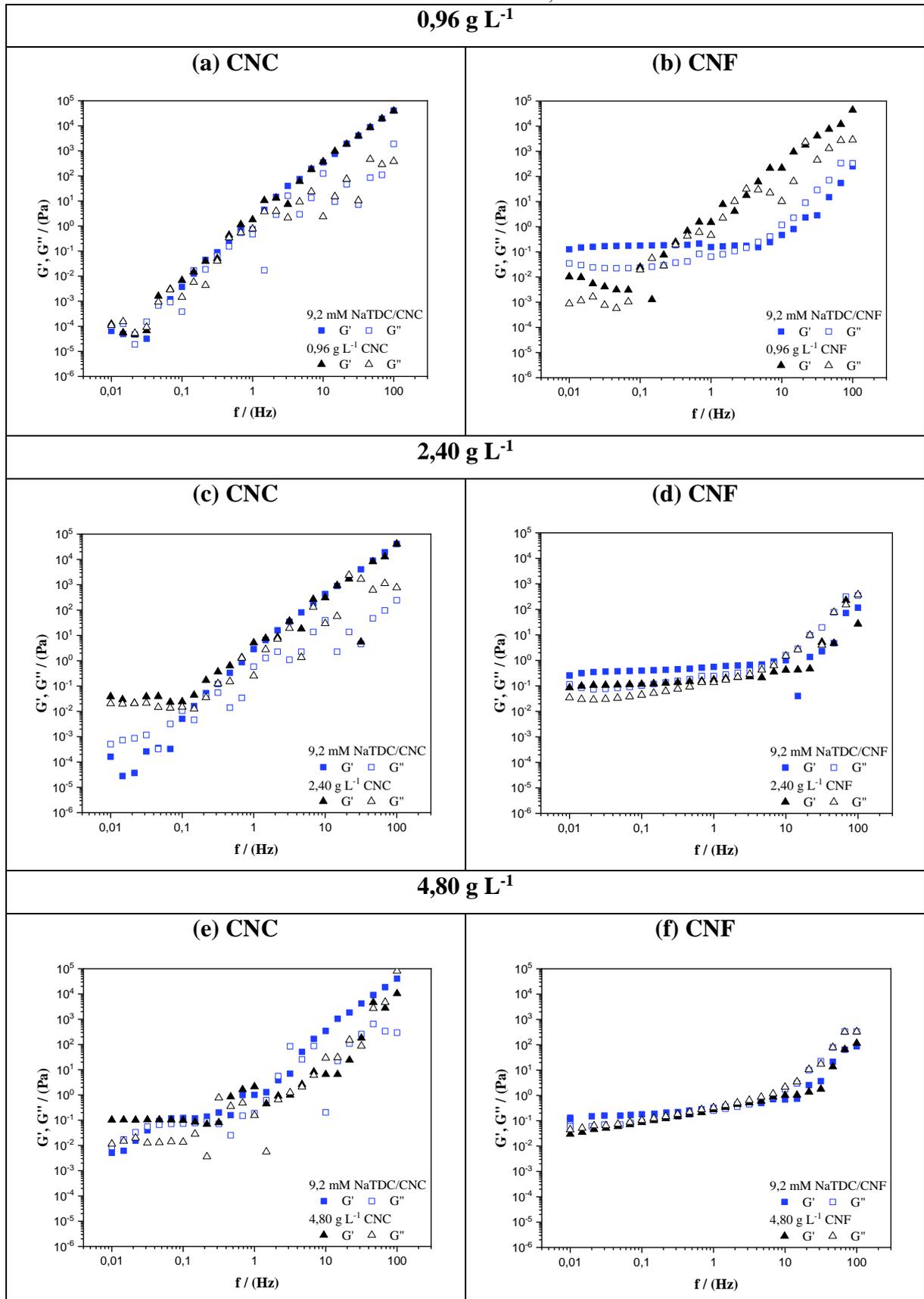
NaTDC						
Nanocelulose		9,2 mM NaTDC		50 mM NaTDC		
		$\eta_0 = 0,09241$ (Pas)		$\eta_0 = 0,1747$ (Pas)		
g L ⁻¹	CNC	CNF	NaTDC/CNC	NaTDC/CNF	NaTDC/CNC	NaTDC/CNF
	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)	η_0 (Pas)
0,96	0,00511	0,0130	0,3245	0,09133	0,2182	5,002
2,40	0,0593	0,2414	0,002418	1,358	0,4124	12,60
4,80	0,0747	0,1544	10,31	36,20	9,578	42,75

Fonte: Autoria própria (2024).

Os valores de η_0 são maiores para os sistemas NaTDC/CNF do que para as amostras de NaTDC/CNC, exceto para a amostra 9,2 mM de NaTDC com 0,96 g L⁻¹ CNF. Ademais, os valores de η_0 aumentaram com o incremento das partículas de nanocelulose, exceto para o sistema formado por 2,40 g L⁻¹ de CNC e 9,2 mM de surfactante. Os maiores valores de η_0 para os sistemas NaTDC/CNF indicam que estes estão mais estruturados que os de NaTDC/CNC (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020). Apesar de existirem entrelaçamentos entre NaTDC/CNC, o incremento do sal de bile e a interação com CNFs favoreceram de maneira mais significativa os entrelaçamentos entre os agregados e, conseqüentemente, a estruturação do sistema. Isso corrobora com a formação de micelas maiores, estando de acordo com os dados obtidos por DLS (Tabela 2.4) (Barnes; Hutton; Walters, 1993).

As Figuras 2.11 e 2.12 apresentam o comportamento dos módulos G' e G'' em função da variação da frequência para as amostras de 9,2 mM e 50 mM de NaTDC/nanocelulose, respectivamente. O ensaio para as soluções do sal de bile é mostrado na Figura 1C (Apêndice C) e as amostras não apresentaram viscoelasticidade.

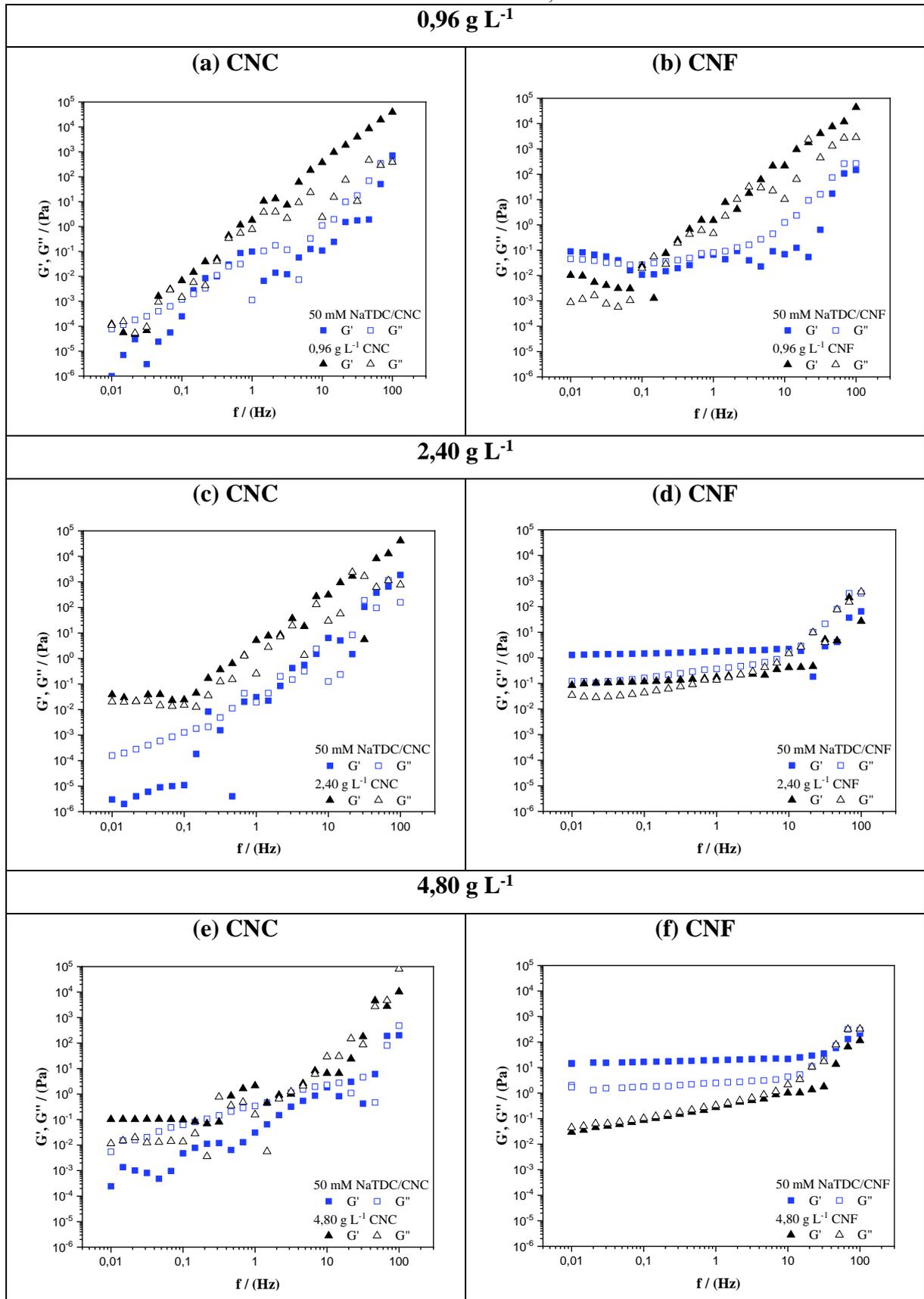
Figura 2.11 - Ensaio dinâmico das dispersões de 9,2 mM NaTDC/nanocelulose (■) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.



Fonte: Autoria própria (2024).

Os sistemas formados por NaTDC/CNC apresentam baixa viscoelasticidade, nos quais os módulos G'' são maiores que os módulos G' em baixas frequências (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020; Disalvo; Frias, 2021), acompanhando o que foi observado para os sistemas contendo NaDC. A hipótese é de que os agregados de NaTDC/CNC formados sejam alongados e, embora tenham tamanhos de partículas maiores do que as partículas da dispersão controle de CNC (Tabela 1B, Apêndice B), eles encontram-se no regime de concentração diluído. Neste regime de concentração não se observam entrelaçamentos entre os agregados, ocasionando a diminuição da viscoelasticidade desses sistemas em comparação com as dispersões de CNCs puras (Cates; Candau, 1990; Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994). Ademais, a adição de CNFs aos sistemas com 9,2 mM NaTDC leva a um ligeiro aumento na viscoelasticidade dos sistemas e as curvas de G' e G'' indicam a formação de géis (valores de G' são maiores que os valores de G'' independente da frequência), embora estes géis apresentem-se mais fracos dos que os géis formados por NaDC/CNF em qualquer concentração. Entretanto, o incremento na concentração do NaTDC de 9,2 mM para 50 mM aos sistemas contendo nanofibrilas levou a um aumento na viscoelasticidade das dispersões, bem como o aumento na concentração de CNF também produziu sistemas mais viscoelásticos semelhantes a géis. Neste caso, os agregados formados por 50 mM NaTDC com CNF encontram-se em regime semidiluído, em que ocorrem maior número de entrelaçamentos entre as estruturas autoagregadas, aumentando-se a viscoelasticidade (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000). Os resultados apontam que os sistemas formados por NaTDC/CNF são menos viscoelásticos dos que os produzidos por NaDC/CNF na mesma concentração de sal de bile e CNFs, indicando que uma diferença na estrutura química dos surfactantes leva a diferentes interações intermoleculares com as partículas de nanocelulose.

Figura 2.12 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaTDC/nanocelulose (■) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.

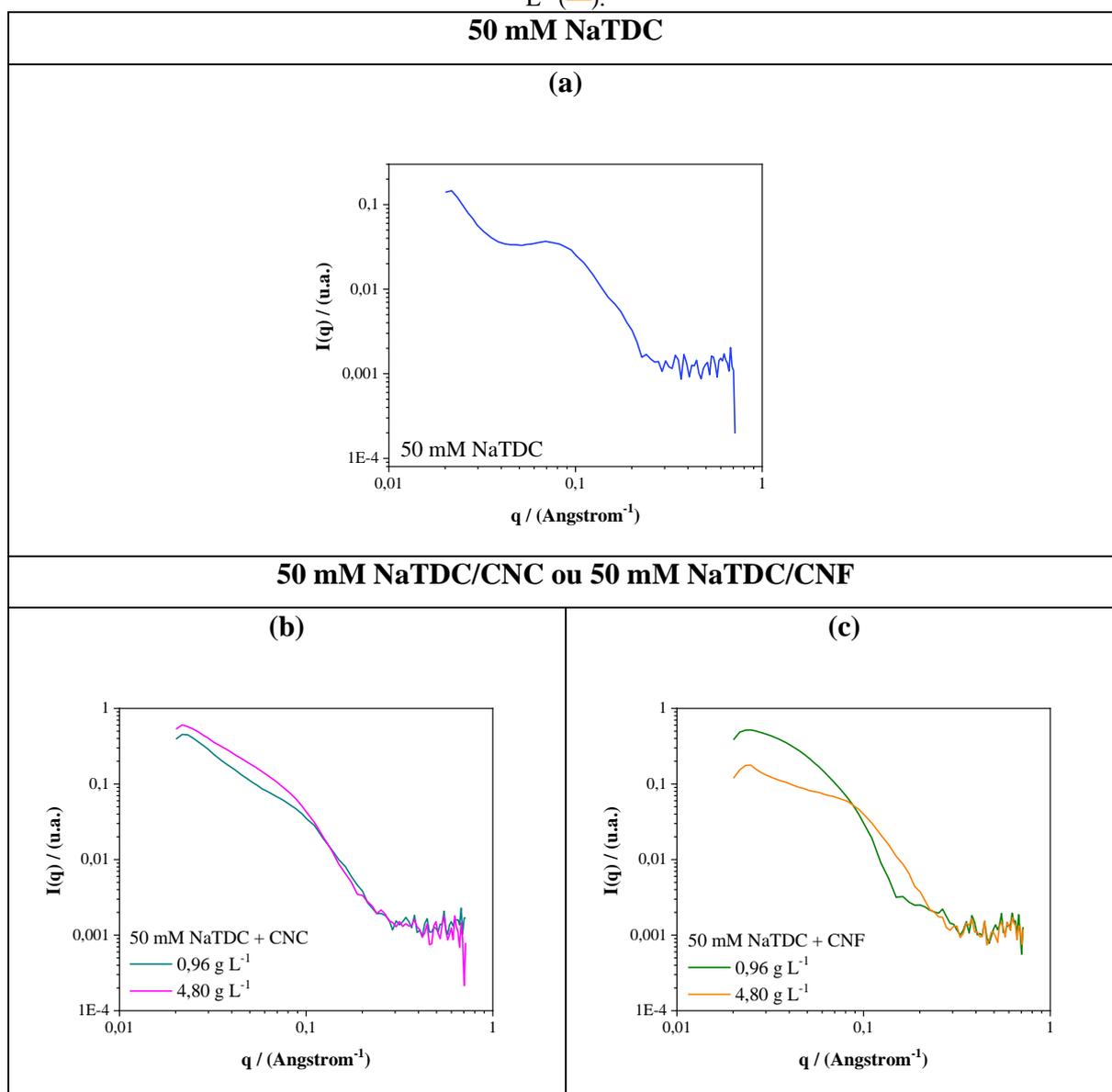


Fonte: Autoria própria (2024).

2.3.2.5 Análise estrutural dos agregados de NaTDC/nanocelulose

A Figura 2.13 mostra as curvas de SAXS obtidas para as amostras contendo 50 mM de NaTDC na presença das nanopartículas de celulose, tendo em vista que nessa concentração do sal de bile foram obtidos sistemas mais viscoelásticos. As curvas de SAXS para as nanoceluloses puras estão presentes na Fig. 2.7.

Figura 2.13– Comparação de curvas SAXS: (a) solução de 50 mM de NaTDC (—) e dispersões de NaTDC/nanocelulose variando (b) CNC a $0,96 \text{ g L}^{-1}$ (—) ou $4,80 \text{ g L}^{-1}$ (—) e (c) CNF a $0,96 \text{ g L}^{-1}$ (—) ou $4,80 \text{ g L}^{-1}$ (—).



Fonte: Autoria própria (2024).

A curva de SAXS da solução de NaTDC a 50 mM apresentou picos de difração em $0,0220$ e $0,0834 \text{ \AA}^{-1}$, ou seja, distâncias de $28,5$ e $7,5 \text{ nm}$, respectivamente. Estes valores estão

de acordo com os observados na literatura (Wang; Fernandes; Marques, 2019), aonde foram obtidos curtos agregados cilíndricos de NaTDC com tamanho de 6,1 nm. As curvas de SAXS mostraram que o aumento na concentração da nanocelulose (CNCs ou CNFs) de 0,96 g L⁻¹ para 4,80 g L⁻¹ aumentaram a intensidade do vetor de espalhamento, I(q), assim como foram observados para os sistemas NaDC/nanocelulose. As curvas de SAXS apresentaram um pico pequeno em aproximadamente 0,0226 Å⁻¹ (distância de 27,8 nm) para todas as amostras de NaTDC/nanocelulose. Um pico pequeno (ombro) foi observado em aproximadamente 0,0858 Å⁻¹ (distância de 7,3 nm) para todas as amostras, exceto para NaTDC com 0,96 g L⁻¹ CNF.

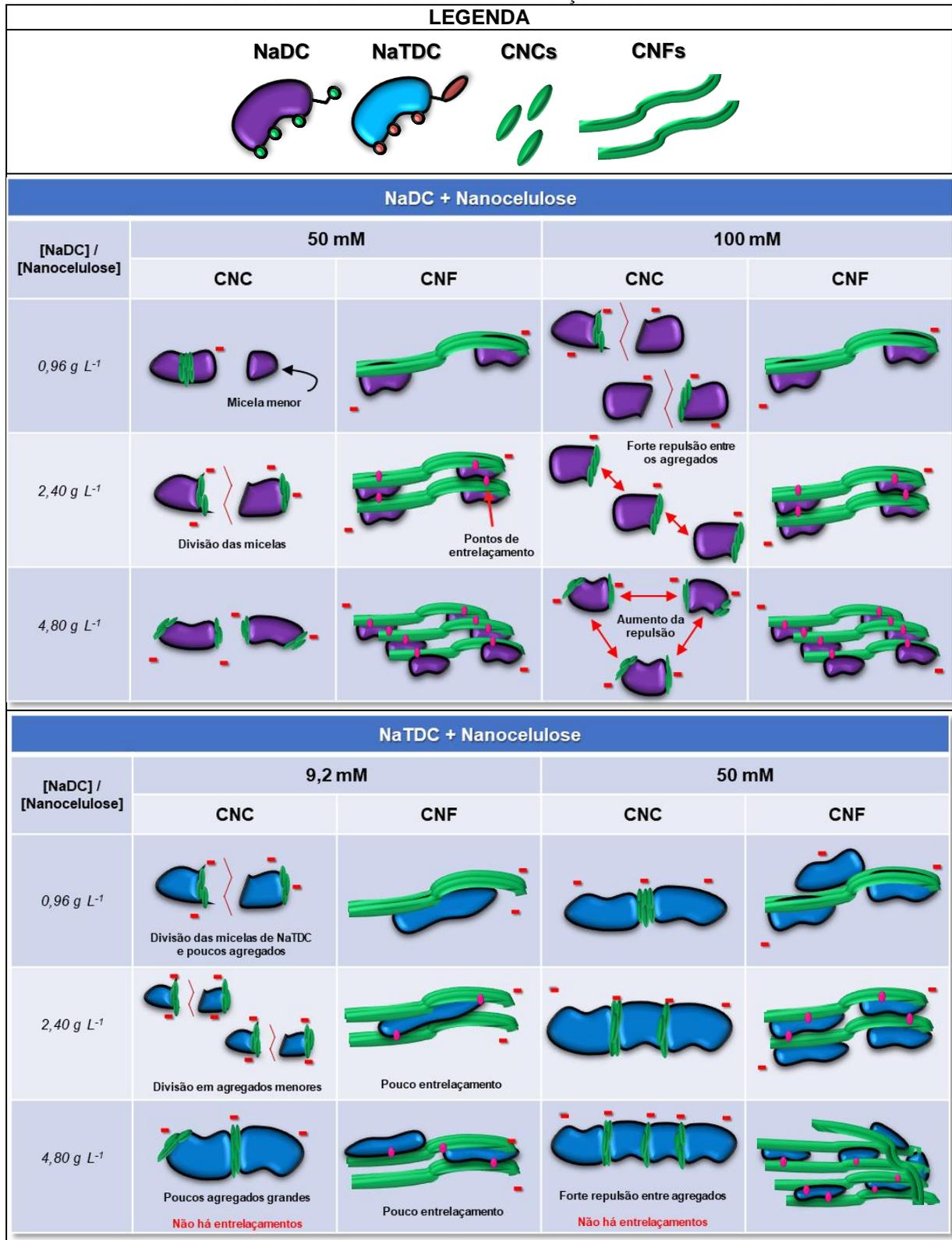
A inclinação (α) obtida da região linear da curva de SAXS para a solução de NaTDC foi igual a -3,1. Para as dispersões de NaTDC com 0,96 g L⁻¹ e 4,80 g L⁻¹ de CNC os valores de α foram -1,72 e -1,6 em baixos valores de q, respectivamente. Para as amostras contendo 0,96 g L⁻¹ e 4,80 g L⁻¹ de CNF com NaTDC os valores α obtidos em baixos valores de q foram -1,68 e -0,88, respectivamente. Esses resultados sugerem que os agregados formados por NaTDC na presença das CNFs são mais alongados e mais próximos de estruturas cilíndricas do que os agregados de NaTDC/CNC, como foi observado para os sistemas formados por NaDC e as nanoceluloses. Todas as amostras apresentaram uma inclinação α em valores de q intermediários igual -3,37, características de morfologia esférica (McDowall; Seddon; Adams, 2022; Jover *et al.*, 2021).

Embora os agregados de NaTDC/CNF apresentem uma morfologia mais cilíndrica, estes estão menos entrelaçados do que os agregados formados por NaDC/CNF, tendo em vista a baixa viscoelasticidade dos sistemas de NaTDC/nanoceluloses quando comparados com NaDC/nanoceluloses. Neste caso, os agregados de NaTDC/nanocelulose têm tamanho de partículas maiores do que aqueles formados por NaDC/nanocelulose, mas os sistemas se encontram em regime mais diluído, e, portanto, com baixo grau de entrelaçamento entre as micelas e contribuindo para a formação de géis mais frágeis do que aqueles formados por agregados de NaDC/CNF que estão em regime semidiluído.

2.3.3 Comparação entre os agregados de NaDC/nanoceluloses e NaTDC/nanoceluloses

A Figura 2.14 apresenta um esquema comparativo entre os agregados formados por NaDC/nanoceluloses e NaTDC/nanoceluloses nas diferentes concentrações baseado nos dados de tamanho de partícula, potencial zeta, medidas reológicas e SAXS.

Figura 2.14 – Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados pelos sais de bile NaDC ou NaTDC misturados com CNCs ou CNFs nas diferentes concentrações de sal de bile e nanocelulose.



Fonte: Autoria própria (2024).

As soluções de NaDC e NaTDC puras em qualquer concentração de surfactantes não mostraram mudanças estatisticamente significativas em relação ao tamanho de partículas, de acordo com o teste Tukey (Tabelas 2.1 e 2.4). Entretanto, as nanopartículas de CNCs e CNFs alteraram o tamanho dos agregados de forma diferente. Por exemplo, a adição de CNC à solução de NaTDC levou a formação de partículas com diâmetros maiores, exceto para a amostra 50 mM de NaDC/0,96 g L⁻¹ de CNC. A hipótese é que as interações intermoleculares como ligações de hidrogênio (grupos sulfônicos) e dipolo-dipolo (éster sulfato) tenham sido favorecidas no sistema com maior concentração de NaTDC e CNC, considerando a alta polaridade e proximidade da estruturação das moléculas, além das ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila de ambas as estruturas e nitrogênio e oxigênio do grupo taurina do surfactante (Macierzanka *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2014, Tasneem, 2023).

Esses fenômenos também são responsáveis pelas interações entre as moléculas de NaDC e CNCs levando, num primeiro momento, à formação de agregados de NaDC/CNC maiores do que a do surfactante puro. Entretanto, o incremento na concentração do nanocrystal provocou a quebra dos agregados de NaDC devido à sua alta carga superficial negativa (forte repulsão entre o sal de bile e CNC), favorecendo a formação de novos agregados cada vez menores. Outro fator importante a ser considerado nas interações que são estabelecidas entre os sais de bile e as partículas de CNCs é que o NaTDC permite um maior número de interações via ligações de hidrogênio do que as moléculas de NaDC, contribuindo assim para a formação de agregados maiores, como foi observado (Kong *et al.*, 2023).

Não houve mudanças significativas no tamanho de partículas para os agregados formados na presença da CNFs para ambos os sais de bile em baixas concentrações, exceto para os sistemas 9,2 mM NaTDC com 4,80 g L⁻¹ de CNF. Ademais, os sistemas formados pelas maiores concentrações dos sais (50 mM NaTDC e 100 mM NaDC) na presença de CNFs apresentaram tamanho de partículas significativamente diferentes, sendo os agregados de NaTDC/CNF maiores que os agregados de NaDC/CNF.

Os resultados de PZ (Tabelas 2.2 e 2.5) mostraram que, tanto em relação a formação de micelas primárias ou secundárias, as soluções de NaDC e NaTDC possuem estatisticamente as mesmas condições de estabilidade coloidal. Os sistemas análogos de NaTDC e NaDC contendo nanocelulose não apresentam mudanças significativas em relação aos valores de PZ, de acordo com o teste Tukey, exceto para os sistemas contendo 4,80 g L⁻¹ de CNF, em que a amostra formada por NaTDC é significativamente mais estável do que a amostra obtida com NaDC. Esse fato pode ser justificado uma vez que a maior carga superficial da estrutura de

NaTDC pode ter promovido maior repulsão entre as partículas de nanofibrilas promovendo maior estabilidade do sistema (Clogston; Patri, 2011; Selvamani, 2019).

As curvas de fluxo (Figuras 2.4 e 2.10) mostraram que o incremento de nanofibrilas contribuiu para o aumento da estruturação dos sistemas para ambos os sais de bile em qualquer concentração. Entretanto, os agregados de NaDC/CNF conferem uma maior estruturação aos sistemas do que as partículas de NaTDC/CNF, em qualquer concentração de surfactante, tendo em vista os valores de η_0 são superiores no primeiro caso (Tabelas 2.3 e 2.6). Provavelmente, a formação de agregados menores nos sistemas de NaDC/CNF favoreceram o entrelaçamento entre o sal de bile e as nanofibrilas, formando um sistema em regime semidiluído, em oposição aos de agregados de NaTDC/CNF, que apresentaram a formação de agregados maiores em um regime diluído (Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020).

Os ensaios de frequência no modo oscilatório (Figuras 2.5, 2.6, 2.11 e 2.12) mostraram que os sistemas de NaDC/CNF são mais viscoelásticos do que os de NaTDC/CNF, tendo em vista que o módulo G' é superior no primeiro caso. O comportamento de gel físico é observado em todos os sistemas contendo CNFs, sendo que os géis se tornam mais fortes (G'/G'') com o incremento da concentração de surfactante e nanofibrilas (Tabela 2.7).

Tabela 2.7 – Valores de G_0 e G'/G'' para os sistemas de NaDC e NaTDC contendo CNFs, que apresentaram comportamento semelhante a géis, em todas as concentrações de sal de bile e nanocelulose.

Sal de bile/CNF		
Sistema	G_0 (Pa)	G'/G''
50 mM NaDC/0,96 g L ⁻¹ CNF	0,4064	1,650
50 mM NaDC/2,40 g L ⁻¹ CNF	29,28	4,828
50 mM NaDC/4,80 g L ⁻¹ CNF	210,1	8,387
100 mM NaDC/0,96 g L ⁻¹ CNF	0,5407	2,428
100 mM NaDC/2,40 g L ⁻¹ CNF	6,383	8,467
100 mM NaDC/4,80 g L ⁻¹ CNF	409,0	10,51
9,2 mM NaTDC/0,96 g L ⁻¹ CNF	0,1773	1,633
9,2 mM NaTDC/2,40 g L ⁻¹ CNF	0,6259	1,923
9,2 mM NaTDC/4,80 g L ⁻¹ CNF	0,1700	2,125
50 mM NaTDC/0,96 g L ⁻¹ CNF	0,05652	1,729
50 mM NaTDC/2,40 g L ⁻¹ CNF	1,943	4,132
50 mM NaTDC/4,80 g L ⁻¹ CNF	22,58	6,661

Fonte: Autoria própria (2024).

Comparando as curvas de SAXS para os sistemas de NaDC/nanocelulose (Figura 2.7) e NaTDC/nanocelulose (Figura 2.13), embora os agregados de NaTDC/CNF apresentem uma morfologia mais cilíndrica que os agregados de NaDC, os quais exibiram uma mistura de morfologias cilíndricas e lamelares, as partículas de NaTDC/CNF estão menos entrelaçados do que os agregados formados por NaDC/CNF, tendo em vista a baixa viscoelasticidade dos sistemas de NaTDC/nanoceluloses quando comparados com as amostras de NaDC/nanoceluloses. Neste caso, os agregados de NaTDC/nanocelulose têm tamanho de partículas maiores do que aqueles formados por NaDC/nanocelulose, mas os sistemas se encontram em regime mais diluído, e, portanto, com baixo grau de entrelaçamento entre as micelas, contribuindo para a formação de géis mais frágeis do que aqueles formados por agregados de NaDC/CNF, por exemplo, e que neste trabalho, encontram-se em regime semidiluído.

CAPÍTULO 3

Influência das Partículas de Nanocelulose em Sistemas Binários de Sais de Bile

Efeito sobre o tamanho, estabilidade e viscoelasticidade em meio aquoso

3.1 INTRODUÇÃO

Apesar do crescente interesse em estudos físico-químicos sobre sistemas mistos de surfactantes (Bhattacharjee *et al.*, 2010; Suys *et al.*, 2017; Yadav; Parikh; Kumar, 2017; Wang; Fernandes; Marques, 2019; Pabois *et al.*, 2021), os trabalhos se limitam a análise das propriedades de somente um tipo de sal de bile (Warren *et al.*, 2006; Madenci; Egelhaaf, 2010; Yadav; Parikh; Kumar, 2017; Jover *et al.*, 2021; Pabois *et al.*, 2021), sendo que ainda são poucos os estudos envolvendo sistemas binários desses biossurfactantes (Roda *et al.*, 1995; Mukherjee *et al.*, 2016; Azum; Rub; Asiri, 2019).

Considerando que os sais de bile são fisiologicamente importantes, Mukherjee *et al.* (2016) trouxeram a combinação binária equimolar de sais biliares de forma a analisar mudanças em relação a cmc dos sistemas. Os resultados mostraram que misturas binárias apresentaram maiores valores de área mínima por molécula, em comparação com valores ideais, e que o grau de ligação dos contraíons das micelas é bastante baixo. Foi observado ainda que os valores de energia livre padrão de adsorção das misturas de sais biliares são mais negativos que os valores de energia livre de micelização por mol de monômero, sendo que a entalpia do processo de micelização reflete o fenômeno de compensação entropia-entalpia.

Para o sistema binário de NaDC/NaTDC em quantidade equimolar, experimentos mostraram que a cmc apresenta valor intermediário quando comparado com os sais de bile sozinhos, atingindo o valor de 2,92 mM a 20 °C. A entalpia padrão de micelização para o sistema binário é de $\Delta H_m^0 = -3,16 \text{ kJ mol}^{-1}$ e a energia livre padrão de micelização é dada por $\Delta G_m^0 = -14,2 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Mukherjee *et al.*, 2016), demonstrando um processo espontâneo e exotérmico.

Azum; Rub; Asiri (2020) analisaram diferentes parâmetros de interação entre NaDC/NaTC. Os resultados mostraram que as formações micelares nos sistemas binários são

termodinamicamente mais estáveis em comparação a micelas formadas a partir dos sais biliares individuais, fenômeno evidenciado pela energia livre de Gibbs negativa. Além disso, à medida que o teor de NaTC aumenta, a formação de micelas tende a ser menos favorável. Ou seja, os sais de bile em diferentes proporções podem modular a formação de micelas em diferentes estruturas, as quais, conseqüentemente, podem levar a comportamentos reológicos distintos dos sistemas.

3.1.1 Objetivos Específicos

Neste capítulo serão abordados os sistemas binários contendo a mistura de NaDC/NaTDC. Aqui o objetivo é explorar as diferentes possibilidades de comportamento reológico dos sistemas autoagregados de sais de bile em meio aquoso na presença de nanocelulose e correlacionar com o tamanho, estabilidade coloidal e morfologia das nanopartículas, comparando com os sistemas contendo um único sal de bile. Ademais, há o intuito de se explorar a interação de micelas primárias com primárias, secundárias com secundárias ou combinação entre micelas primárias e secundárias de cada sal. Assim, os sistemas combinarão as diferentes concentrações utilizadas nos estudos para cada um dos sais, NaDC e NaTDC (**Capítulo 2**), e serão analisados conforme as variações de concentração de CNCs ou CNFs.

3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

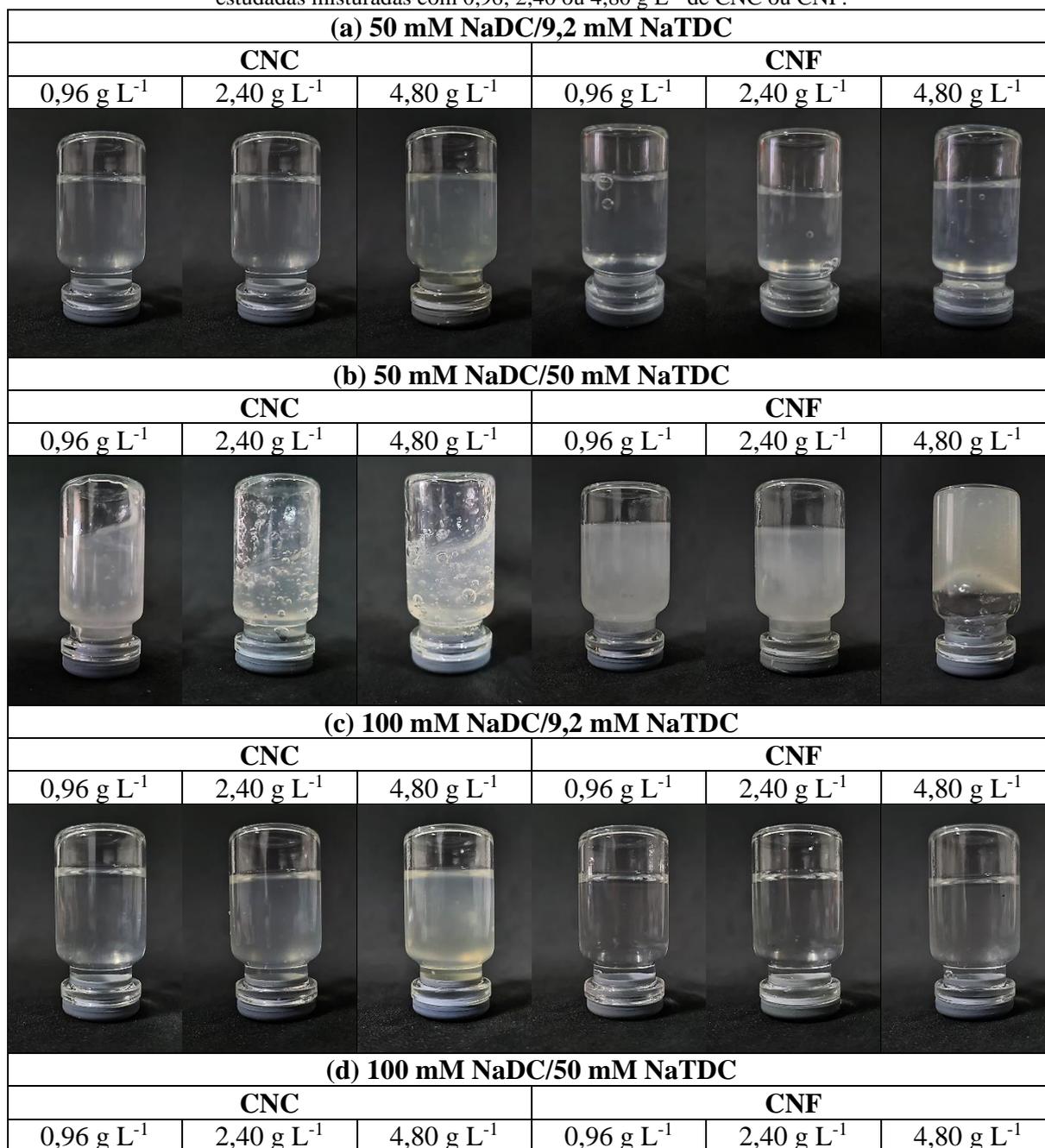
Os materiais para a preparação dos sistemas de NaDC/NaTDC/nanocelulose e métodos de caracterização acompanharam o que foi abordado na **seção 2.2**. Entretanto, neste capítulo, dispersões aquosas de sistemas binários de sais de bile, contendo nanocelulose nas três concentrações estabelecidas, foram preparadas realizando a combinação de micelas primárias ou secundárias de um sal com micelas primárias ou secundárias do outro sal. No caso as micelas primárias de NaDC e NaTDC foram possivelmente observadas em 50 mM e 9,2 mM, respectivamente e as secundárias em 100 mM e 50 mM, respectivamente. Assim, foram obtidos sistemas com proporções de NaDC/NaTDC em 50 mM/9,2 mM; 50 mM/50 mM; 100 mM/9,2 mM e 100 mM/50 mM, variando a concentração de CNC ou CNF em 0,96, 2,40 ou 4,80 g L⁻¹.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Análise visual das dispersões de NaDC/NaTDC

A Figura 3.1 apresenta as fotografias dos sistemas binários de NaDC e NaTDC contendo nanocelulose.

Figura 3.1 - Fotografias das dispersões finais de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile estudadas misturadas com 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹ de CNC ou CNF.





Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A mistura de NaDC e NaTDC em diferentes concentrações resultou em dispersões aparentemente homogêneas e, no geral, não apresentaram mudanças significativas entre si, exceto em quantidade equimolar de sais de bile. As amostras de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC contendo CNCs ou CNFs são aparentemente mais viscosas do que as demais, o que vai de acordo com o que foi observado para a solução controle de surfactantes (Figura 1A, Apêndice A), sendo que a amostra que contém CNF em maior concentração ($4,80 \text{ g L}^{-1}$) apresentou maior aderência na parte superior do frasco.

3.3.2 Efeito da nanocelulose sobre a distribuição do tamanho das partículas dos agregados mistos de NaDC/NaTDC

A Tabela 3.1 apresenta os valores de tamanho de partículas, obtidos para as soluções de NaDC/NaTDC e dispersões de NaDC/NaTDC/nanocelulose, que apresentaram maior intensidade de aparecimento (%). No Apêndice B (Tabela 3B) encontram-se todas as populações observadas para esses sistemas.

Tabela 3.1 – Média dos valores de tamanho de partículas que apresentaram maior intensidade de aparecimento, em %, nas curvas de DLS, obtidos para as soluções de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais e bile e após a adição de CNC ou CNF ($0,96$; $2,40$ ou $4,80 \text{ g L}^{-1}$).

NaDC/NaTDC				
Sistemas	Tamanho de partículas (nm)			
	50 mM/9,2 mM	50 mM/50 mM	100 mM/9,2 mM	100 mM/50 mM
	843,9 nm - 75% ^{ab}	1356 nm - 82% ^a	1,413 nm - 56% ^c	1,642 nm - 61% ^c
0,96 g L⁻¹ CNC	598,4 nm - 86% ^{bc}	246,6 nm - 69% ^{bc}	494,3 nm - 45% ^{bc}	1,998 nm - 44% ^c
2,40 g L⁻¹ CNC	592,1 nm - 85% ^{bc}	166,5 nm - 78% ^c	266,5 nm - 35% ^{bc}	10,65 nm - 47% ^c
4,80 g L⁻¹ CNC	141,9 nm - 58% ^c	209,2 nm - 83% ^c	363,6 nm - 42% ^{bc}	58,04 nm - 28% ^c
0,96 g L⁻¹ CNF	301,9 nm - 68% ^{bc}	230,1 nm - 83% ^c	306,9 nm - 83% ^{bc}	195,1 nm - 30% ^c
2,40 g L⁻¹ CNF	171,4 nm - 91% ^c	293,5 nm - 79% ^{bc}	324,7 nm - 92% ^{bc}	510,2 nm - 55% ^{bc}
4,80 g L⁻¹ CNF	259,0 nm - 51% ^{bc}	304,2 nm - 75% ^{bc}	262,3 nm - 85% ^{bc}	192,8 nm - 53% ^c

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

Os resultados mostram a formação de partículas de pequeno, médio ou grande tamanho, sugerindo diferentes estruturas a depender da concentração de cada sal de bile na dispersão. As soluções mistas dos surfactantes 100 mM NaDC com 9,2 mM e 50 mM de NaTDC apresentaram uma porcentagem maior de partículas com menos de 2 nm, sugerindo uma grande repulsão entre os surfactantes nessas concentrações e desestruturação dos agregados. Entretanto, as moléculas de NaDC em menor concentração (50 mM) interagiram melhor com as micelas de NaTDC formando estruturas com tamanhos maiores. Em quantidade equimolar de surfactantes (50 mM NaDC/50 mM NaTDC), a agregação das estruturas foi favorecida, uma vez que foi observada grande quantidade de partículas de cerca de 1300 nm.

As partículas dos sistemas contendo CNCs ou CNFs não apresentaram mudanças significativas em relação ao tamanho, sendo que, na maioria dos casos, formaram-se partículas de médio tamanho. A exceção é vista em 100 mM NaDC/50 mM NaTDC, onde foram formados agregados menores do que 100 nm nos sistemas contendo CNCs. O grupo taurina do NaTDC pode ter desfavorecido a formação de micelas, conforme o aumento da concentração do sal de bile, o que está de acordo com resultados observados em outro trabalho com sistemas binários de sais de bile (Azum; Rub; Asiri; 2020). Porém as interações intermoleculares podem ter sido favorecidas nos sistemas de 100 mM NaDC/50 mM NaTDC contendo CNFs, justificando a formação de agregados significativamente maiores do que os sistemas contendo nanocristais. O aumento da concentração de nanocelulose nos sistemas contendo quantidade equimolar dos surfactantes não apresentou mudanças significativas de tamanho, porém a adição de CNCs ou CNFs na solução de NaDC/ NaTDC em quantidade equimolar favoreceu a quebra das micelas mistas de surfactantes tendo em vista a formação de partículas menores do que as observadas na solução controle.

3.3.3 Influência da nanocelulose sobre a estabilidade coloidal de agregados de agregados binários de sais de bile

Todos os sistemas binários de sais de bile contendo nanopartículas de celulose apresentaram valores de PZ (Tabela 3.2) mais negativos do que os observados para as soluções de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções, sugerindo que a adição de nanocelulose contribuiu para o aumento da repulsão entre as partículas e estabilidade coloidal dos sistemas. As partículas de CNF promoveram um aumento significativo dos valores absolutos de PZ em comparação com as partículas de CNC, exceto em 50 mM NaDC/50mM NaTDC.

Tabela 3.2 – Valores de PZ, em mV, para as soluções de NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile e NaDC/NaTDC/nanocelulose em diferentes concentrações de CNC ou CNF.

Sistemas	NaDC/NaTDC			
	PZ (mV)			
	50 mM/9,2 mM	50 mM/50 mM	100 mM/9,2 mM	100 mM/50 mM
	-19,3 ± 1,76 ^{ab}	-12,0 ± 1,4 ^a	-10,0 ± 0,72 ^a	-11,1 ± 0,7 ^a
0,96 g L⁻¹ CNC	-28,1 ± 1,5 ^{bc}	-49,7 ± 6,8 ^{de}	-17,9 ± 1,0 ^{ab}	-19,3 ± 1,5 ^{ab}
2,40 g L⁻¹ CNC	-31,27 ± 2,4 ^{bc}	-59,1 ± 4,1 ^e	-24,4 ± 1,7 ^{ab}	-16,6 ± 1,2 ^{ab}
4,80 g L⁻¹ CNC	-31,8 ± 1,3 ^{bc}	-52,3 ± 5,0 ^{de}	-18,9 ± 1,6 ^{ab}	-18,9 ± 0,51 ^{ab}
0,96 g L⁻¹ CNF	-28,1 ± 7,5 ^{bc}	-41,3 ± 3,6 ^{cd}	-27,9 ± 1,0 ^{bc}	-40,7 ± 2,4 ^{cd}
2,40 g L⁻¹ CNF	-53,7 ± 18 ^{de}	-53,3 ± 2,7 ^{de}	-27,8 ± 1,0 ^{bc}	-16,8 ± 1,0 ^{ab}
4,80 g L⁻¹ CNF	-43,4 ± 11,3 ^{cd}	-60,3 ± 3,1 ^e	-29,6 ± 2,7 ^{bc}	-53,8 ± 0,93 ^{de}

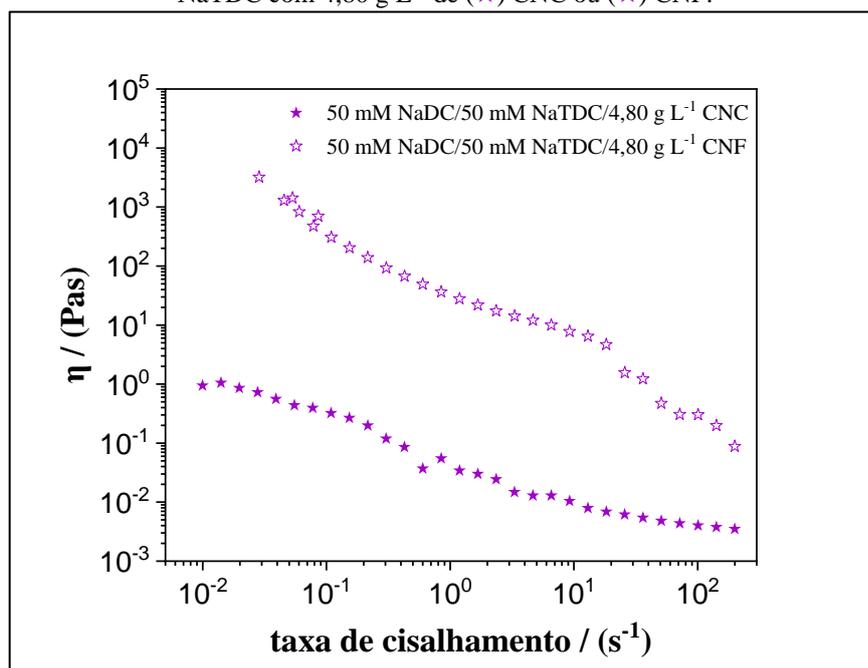
Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Fonte: Autoria própria (2024).

Ademais, os valores absolutos de PZ são menores na proporção 50 mM NaDC/9,2 mM NaTDC do que em 50 mM/50 mM, indicando que há maior repulsão das partículas no segundo caso e maior estabilização das mesmas. Em todas as condições, as partículas apresentaram valores negativos, o que indica que as superfícies estão mais hidroxiladas. Para a maioria das proporções de sais de bile/nanocelulose testadas, as dispersões apresentaram valores absolutos de PZ superiores a 30 mV, indicando dispersões estáveis (Selvamani, 2019), no momento em que foram realizadas as medidas. Os sistemas binários de 100 mM NaDC/9,2 mM NaTDC, 100 mM NaDC/50 mM NaTDC misturados com CNCs e 100 mM NaDC/50 mM NaTDC com 2,40 g L⁻¹ de CNF apresentaram valores absolutos de PZ inferiores a 20 mV, indicando uma instabilidade coloidal dos sistemas com a aglomeração das partículas em dispersão.

3.3.4 Análise reológica dos sistemas de NaDC/NaTDC/nanocelulose

Os sistemas binários de sais de bile contendo CNCs ou CNFs apresentaram os fenômenos de *shear thinning* e *shear thickening* como observados para os sistemas de NaDC/nanocelulose e NaTDC/nanocelulose. A Figura 3.2 ilustra esse comportamento para um dos sistemas de NaDC/NaTDC/nanocelulose. Além disso, notou-se que o incremento da concentração de nanocelulose causou um aumento de η_0 (Tabela 3.3) para todos os sistemas, conforme observado para os sistemas anteriores (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Disalvo; Frias, 2021).

Figura 3.2 – Curva de fluxo ($\eta \times \dot{\gamma}$) para o sistema de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC com 4,80 g L⁻¹ de (★) CNC ou (☆) CNF.



Fonte: Autoria própria (2024).

A Tabela 3.3 contém os valores de η_0 obtidos para os sistemas de NaDC/NaTDC/nanocelulose em diferentes proporções de NaDC/NaTDC na presença de CNC ou CNF.

Tabela 3.3 – Valores de η_0 para NaDC/NaTDC nas diferentes proporções de sais de bile e dispersões de NaDC/NaTDC/nanocelulose em diferentes concentrações de CNC ou CNF (0,96; 2,40 e 4,80 g L⁻¹).

Nanocelulose (g L ⁻¹)	NaDC/NaTDC							
	η_0 (Pas)							
	50 mM/9,2 mM		50 mM/50 mM		100 mM/9,2 mM		100 mM/50 mM	
	$\eta_0 = 0,1006$		$\eta_0 = 0,2275$		$\eta_0 = 0,2728$		$\eta_0 = 0,2527$	
	CNC	CNF	CNC	CNF	CNC	CNF	CNC	CNF
0,96	0,1732	0,1120	0,2615	3,163	0,07033	0,1491	0,1356	0,08625
2,40	0,2789	0,3108	0,2132	26,43	0,2806	0,1430	0,5042	0,3142
4,80	1,667	11,45	0,9422	3207	1,466	1,096	0,8221	0,7688

Fonte: Autoria própria (2024).

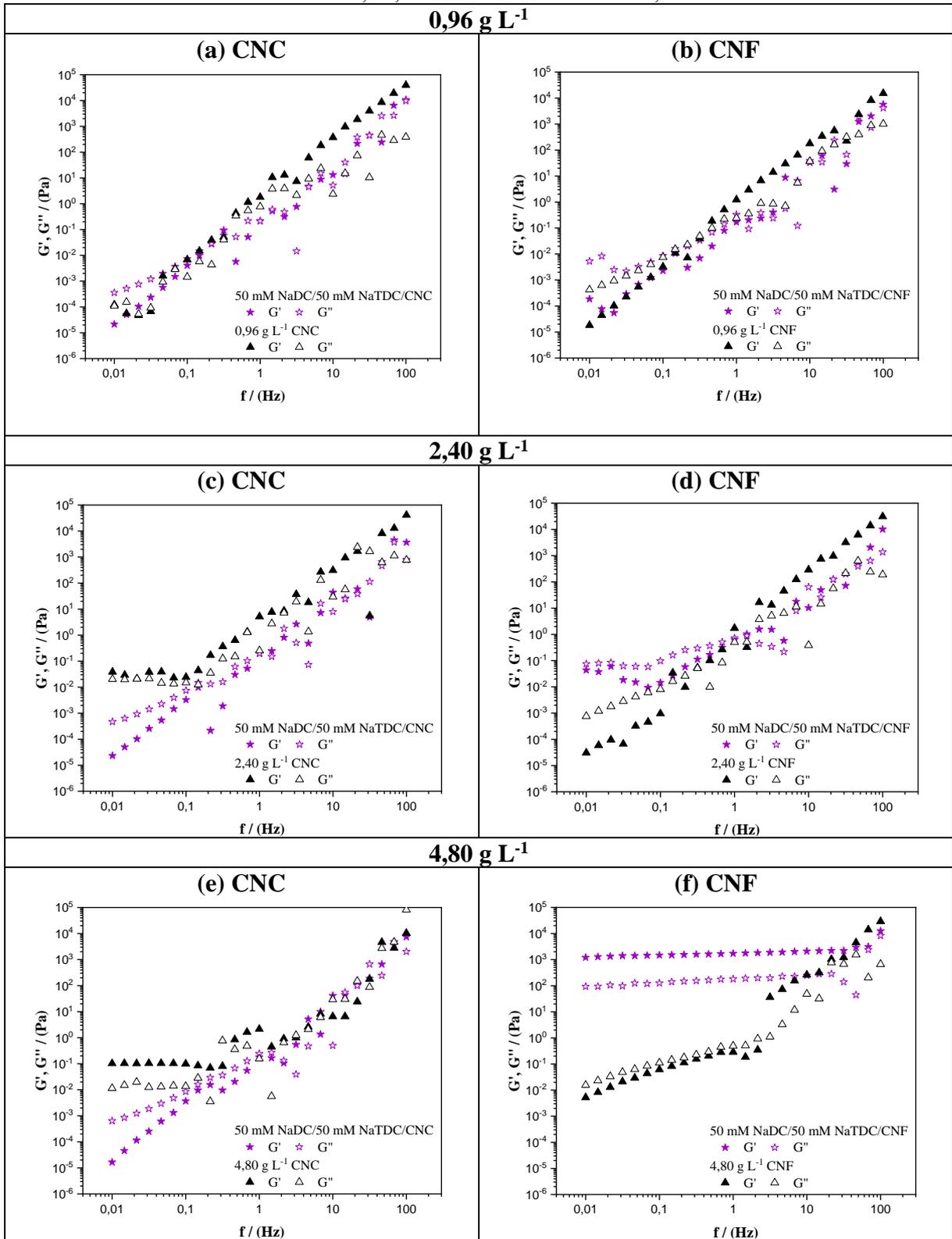
O incremento da concentração de CNC ou CNF provocou o aumento de η_0 para todos os sistemas, sugerindo uma maior estruturação dos agregados. Entretanto, as nanopartículas de celulose atuam de formas diferentes a depender da proporção entre NaDC/NaTDC. Os sistemas formados por 100mM NaDC com 9,2 mM NaTDC ou 50 mM NaTDC são menos estruturados

e a adição de CNCs promoveu a formação de sistemas mais viscosos, enquanto os sistemas formados por 50mM de NaDC com 9,2 mM ou 50 mM de NaTDC são mais estruturados pela ação das partículas de CNF, com uma diferença significativa para os sistemas formados por 50mM de cada sal de bile. Este resultado sugere que diferentes tipos de agregados são formados com mudanças sutis da composição do meio.

Foram realizadas as análises de varredura de frequência para todos os sistemas binários de sais de bile com CNCs ou CNFs. Os sistemas de NaDC/NaTDC: (i) 50 mM/9,2 mM, (ii) 100 mM/9,2 mM e (iii) 100 mM/50 mM não apresentaram mudanças significativas em relação a viscoelasticidade dos sistemas. Para essas amostras, contendo CNCs ou CNFs, o módulo de viscosidade G'' apresentou valores superiores do que o módulo de elasticidade G' , demonstrando a formação de sistemas menos viscoelásticos. O comportamento de G' e G'' conforme a variação da frequência para esses sistemas pode ser conferido no Apêndice C. Da mesma forma do que foi visto com as amostras contendo apenas um sal de bile, a mudança de concentração praticamente não interferiu na viscoelasticidade dos sistemas.

Entretanto, o sistema (iv) 50 mM NaDC/50 mM NaTDC/CNF apresentou significativa viscoelasticidade, conforme pôde-se observar valores de G' superiores a G'' em ampla faixa de frequência. Essas observações corroboram com os resultados visuais da amostra (Figura 3.1). Assim, aqui serão discutidos os resultados referentes a amostra de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC (Figura 3.3), uma vez que nessa concentração, os sais apresentaram uma maior estruturação em relação às demais.

Figura 3.3 - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC/nanocelulose (★) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (▲). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.



Fonte: Autoria própria (2024).

A adição 50 mM NaDC/50 mM NaTDC à dispersão de CNC provoca a diminuição da viscoelasticidade dos sistemas, nos quais os módulos G'' são maiores que os módulos G' (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020; Disalvo; Frias, 2021). Assim, esses resultados acompanham o que foi observado para os sistemas contendo apenas um sal de bile, em que há a diminuição da viscoelasticidade dos sistemas em comparação com a dispersão de CNC pura e o regime pode ser considerado diluído (Cates; Candau, 1990; Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994).

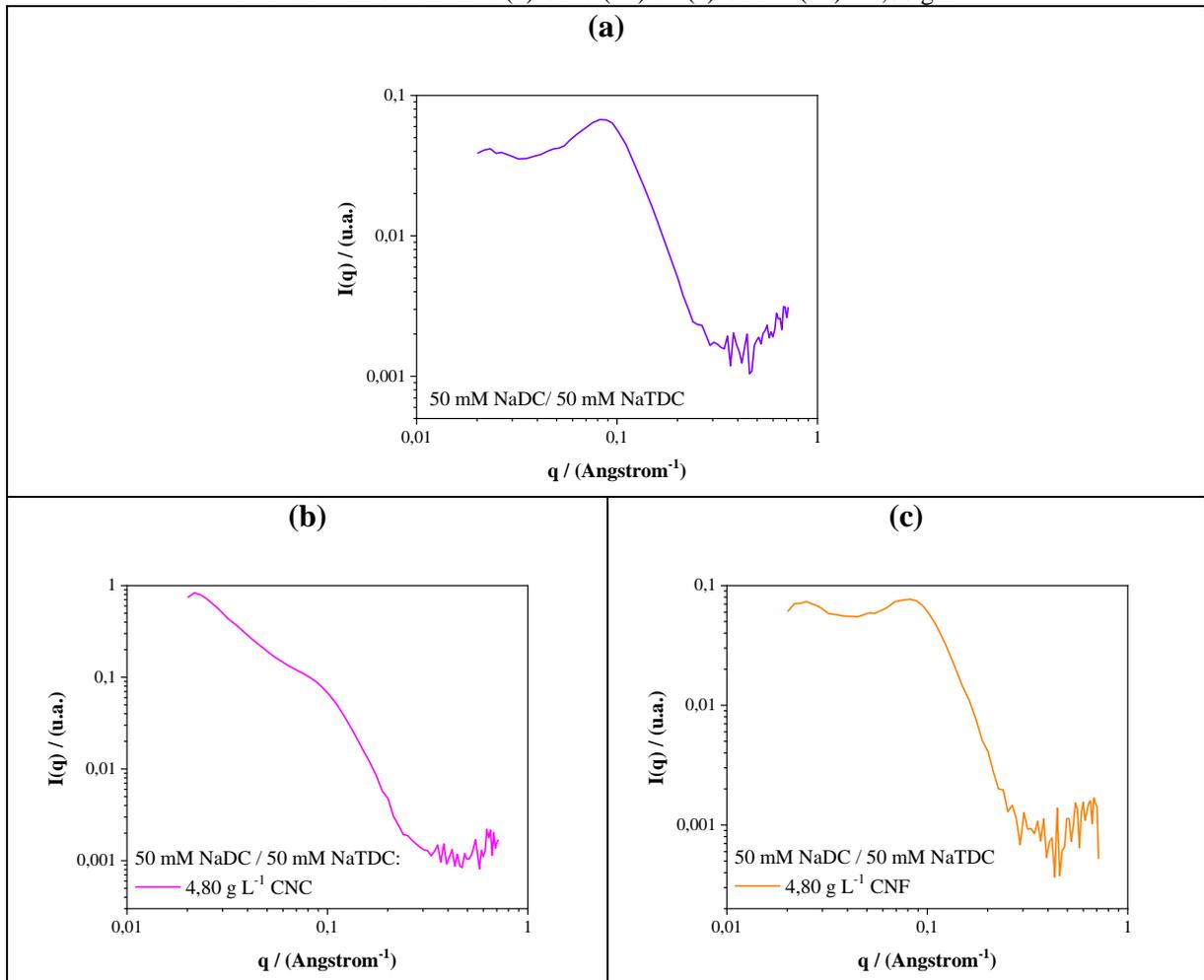
Os valores de G' para os sistemas formados por 50 mM NaDC/50 mM NaTDC/CNF em concentração de 2,40 e 4,80 g L⁻¹ são maiores do que os valores observados de G' para as dispersões controle de CNF. Ou seja, a adição da mistura de sais de bile a dispersão de CNF proporcionou a formação de estruturas mais longas do que as observadas para as amostras de nanofibrilas pura e um maior entrelaçamento entre elas, uma vez que há um aumento na viscoelasticidade dos sistemas (Cates; Candau, 1990; De Gennes, 1990; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020; Disalvo; Frias, 2021).

Diferentemente do que foi observado para as amostras contendo somente NaDC ou NaTDC com CNFs, as medidas reológicas das amostras de 50 mM NaDC/50 mM NaTDC com CNFs mostraram que para as proporções de nanofibrilas de 0,96 e 2,40 g L⁻¹, os módulos G' obtidos em baixas e médias frequências foram menores do que os módulos G'' . Entretanto, em concentração de 4,80 g L⁻¹, o módulo G' é significativamente maior do que G'' , o que é característico da formação de um gel físico (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000). Possivelmente os agregados de NaDC/NaTDC/CNF também se encontram em regime de concentração semidiluída sugerindo a ocorrência de entrelaçamentos entre as estruturas autoagregadas (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000).

3.3.5 Análise estrutural dos agregados de 50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/ 4,80 g L⁻¹ nanocelulose

A Figura 3.4 mostra as curvas de SAXS para os sistemas equimolares de NaDC/NaTDC (50 mM sal de bile) na presença de 4,80 g L⁻¹ das partículas de nanocelulose.

Figura 3.4- Curvas SAXS para (a) solução equimolar (50 mM) de NaDC/NaTDC (—) e dispersão de NaDC/NaTDC contendo (b) CNC (—) ou (c) CNF a (—) a 4,80 g L⁻¹.



Fonte: A autoria própria (2024).

A curva de SAXS da amostra 50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC exibiu picos de difração em 0,0223 e 0,0819 \AA^{-1} , ou seja, distâncias de 28,2 e 7,7 nm, respectivamente. As curvas de SAXS mostraram que a adição das nanopartículas de celulose (CNCs ou CNFs) aumentaram a intensidade do vetor de espalhamento, $I(q)$, principalmente para o sistema formado por NaDC/NaTDC na presença dos CNCs. Este resultado indica que os agregados formados por NaDC/NaTDC/CNC apresenta uma densidade eletrônica diferente daqueles formados por NaDC/NaTDC/CNF, indicando um alto contraste em relação as moléculas de água do meio (Chu; Dreiss; Feng, 2013). O pico em baixos valores de q é observado em 0,0221 \AA^{-1} (distância 28,4 nm) e 0,0249 \AA^{-1} (distância de 25,2 nm) para as amostras contendo CNCs e CNFs, respectivamente. Ademais, todas as amostras contendo nanocelulose apresentaram um pico em 0,0819 \AA^{-1} (distância de 7,7 nm), como foi observado para o sistema binário equimolar dos sais de bile.

A inclinação (α) obtida da região linear da curva de SAXS em valores de q intermediários para a mistura equimolar de NaDC/NaTDC foi -3,7, indicando a formação de estruturas esféricas. Para as dispersões de NaDC/NaTDC com 4,80 g L⁻¹ das partículas de nanocelulose observou-se duas regiões distintas em valores de q baixo e intermediário. Para a amostra formada por CNCs os valores de α foram -1,8 e -4,2 para os valores de q baixo e intermediário, respectivamente. Este resultado sugere que os agregados 50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/ 4,80 g L⁻¹ CNC possuem uma morfologia de cilindros curtos (q baixo). Também foi possível observar pela curva de SAXS a região da estrutura esférica do agregado (q intermediário). Para a amostra contendo CNFs os valores de α em q baixo e intermediário foram -0,5 e -4,2, respectivamente, sugerindo a formação de longas estruturas cilíndricas (q baixo), bem como observar a região de estruturas esféricas (q intermediário) (McDowall; Seddon; Adams, 2022; Jover *et al.*, 2021). Neste caso, os agregados de NaDC/NaTDC/CNF apresentem uma morfologia cilíndrica e encontram-se com alto grau de entrelaçamento, explicando a alta viscoelasticidade observada para este sistema.

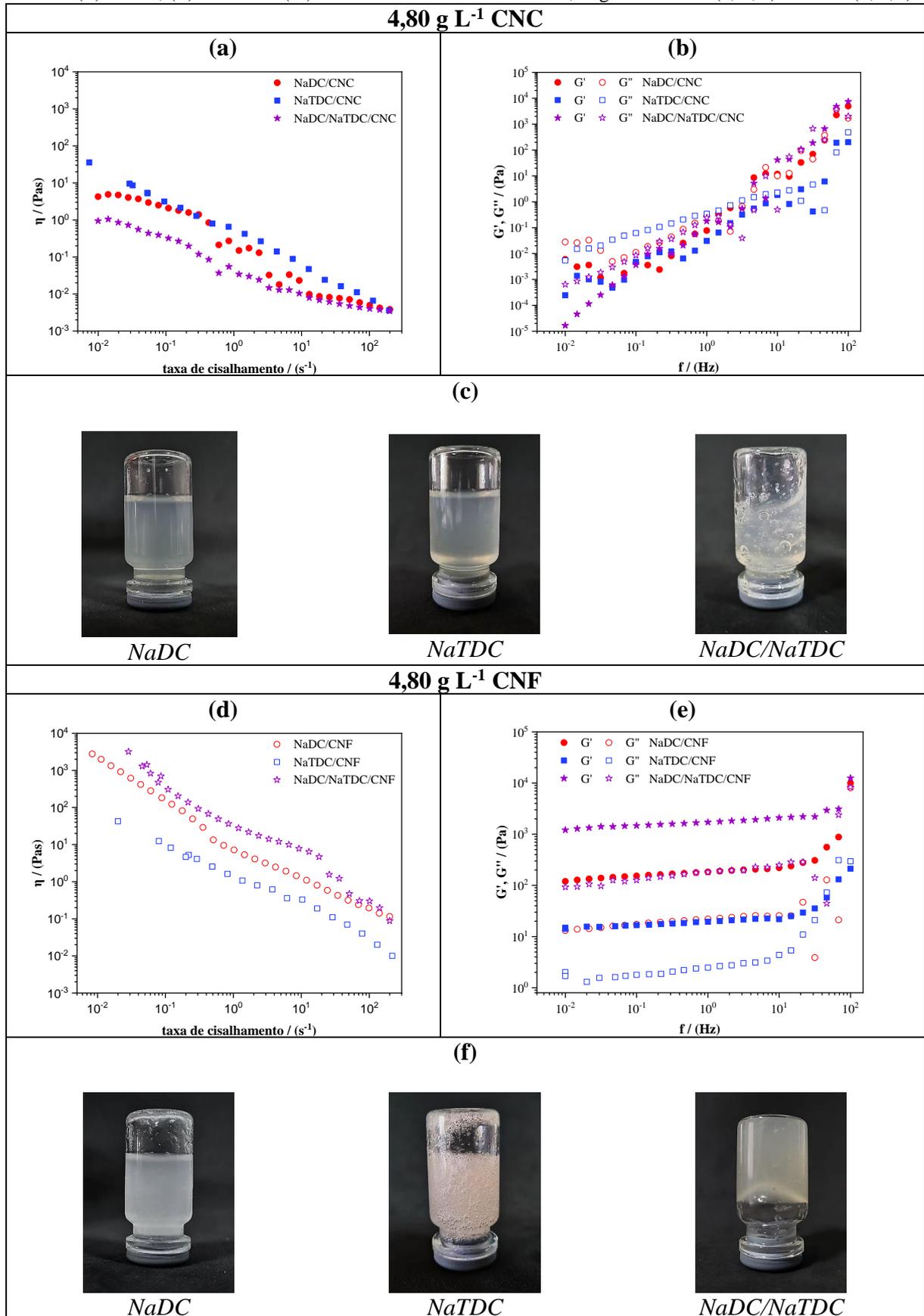
3.3.6 Estudo comparativo da influência da nanocelulose nos agregados de 50 mM NaDC, 50 mM NaTDC e 50 mM NaDC/50 mM NaTDC

Comparando os sistemas formados por 50 mM dos sais de bile nos sistemas simples e binário na presença das nanoceluloses, podemos estabelecer as seguintes inferências abaixo baseados nos dados de tamanho de partícula, potencial zeta, reologia e SAXS.

Os dados de tamanho de partícula mostram que os agregados de NaDC/NaTDC/nanocelulose apresentaram partículas de tamanho inferior aos observados para o NaDC/nanocelulose e NaTDC/nanocelulose, embora o sistema equimolar binário de NaDC/NaTDC puro apresentou tamanho superior ao das soluções puras dos sais de bile (Tabelas 2.1, 2.4 e 3.1). A hipótese é que as interações intermoleculares estabelecidas entre os agregados de composição equimolar de NaDC/NaTDC com as partículas de nanocelulose sejam favorecidas, de forma que os monômeros dos sais nos agregados “escapam” e são atraídas pela nanocelulose de forma a criarem outra estrutura de NaDC/NaTDC/nanocelulose. Ademais, os valores de PZ para as amostras 50 mM NaDC/50 mM NaTDC/nanocelulose são mais negativos do que os observados para os outros sistemas, sugerindo que essas partículas apresentam uma grande estabilidade (Tabelas 2.2, 2.5 e 3.2) (Clogston; Patri, 2011; Bhattacharjee, 2016).

As curvas reológicas comparativas (curvas de fluxo e dinâmicas de frequência) para os sistemas estão apresentadas na Figura 3.5.

Figura 3.5 – Comparativo das curvas de fluxo, dinâmico de frequência e fotografias das amostras equimolares 50 mM de (●) NaDC, (■) NaTDC e (★) NaDC/NaTDC acrescidas de 4,80 g L⁻¹ de CNC (a; b; c) ou CNF (d; e; f).



Fonte: Gráficos de autoria própria e fotografias de arquivo pessoal (2024).

As diferentes nanoceluloses desempenham diferentes papéis na viscoelasticidade dos sistemas. As curtas estruturas dos CNCs não são capazes de promover entrelaçamentos entre os agregados, enquanto as estruturas mais alongadas das CNFs (Figura 1.9) promovem um maior entrelaçamento com as micelas de sais de bile. Este maior grau de entrelaçamento confere ao sistema NaDC/NaTDC/CNF um forte caráter viscoelástico característico de gel. O valor de G_0 para a amostra contendo a mistura binária dos sais de bile e maior concentração de CNFs é de 2011 Pa, conferindo a esse sistema agregados com maior grau de entrelaçamentos, em comparação aos sistemas análogos de NaDC/CNF e NaTDC/CNF, uma vez que G_0 , no primeiro caso, é cerca de 10 e 90 vezes superior aos outros sistemas, respectivamente. A força do gel, determinada por G'/G'' , formado no sistema equimolar binário contendo maior concentração de CNFs, atinge o valor de 8,879 e é cerca de 1,06 e 1,33 vezes mais forte do que o observado nos sistemas análogos de NaDC e NaTDC, respectivamente (Tabela 2.7).

As curvas mostraram que os sistemas contendo CNFs apresentaram os maiores valores de η_0 (Fig. 3.5 *d*) e são altamente viscoelásticos, com os módulos G' e G'' independentes da frequência o que é característico de géis (Fig. 3.5 *e*). Os sistemas contendo CNCs possuem uma viscosidade aparente mais baixo e são poucos viscoelásticos (Fig. 3.6 *a* e *b*). Ademais, CNF em maior quantidade ($4,80 \text{ g L}^{-1}$) desempenhou um papel importante na estruturação dos sistemas, especialmente para o sistema binário de NaDC/NaTDC/CNF em que o valor de η_0 é maior que para aos sistemas NaDC/CNF e NaTDC/CNF, nos quais os valores η_0 foram 3207 Pas, 1993 Pas e 42,75 Pas, respectivamente. As fotos dos sistemas contendo CNFs (Fig. 3.5 *f*) mostram claramente o caráter de gel desses agregados comparados aos sistemas formados por sais de bile e CNCs (Fig. 3.5 *c*).

Os resultados de SAXS (Figuras 2.7, 2.13 e 3.4) mostraram que longas estruturas cilíndricas foram obtidas para a amostra 50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/ $4,80 \text{ g L}^{-1}$ CNF, e que, de modo geral, os agregados de sais de bile na presença das partículas de nanofibrilas são mais alongados do que os obtidos na presença do nanocristal. Este resultado corrobora com os dados reológicos, nos quais as CNFs promovem uma maior estruturação dos sistemas em relação àqueles formados pelas partículas do nanocristal. Essa maior estruturação dos agregados de sais de bile na presença das CNFs ocasionando a formação de géis mais fortes uma vez que as partículas de CNFs possuem um maior comprimento quando comparado aos CNCs, ocasionando um maior entrelaçamento dos agregados e alta viscoelasticidade aos sistemas (Moon *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2022).

A Tabela 3.4 resume os principais resultados obtidos de tamanho de partículas, estabilidade coloidal, viscoelasticidade e estruturação, com potenciais aplicações, para os sistemas contendo 50 mM dos sais de bile e maior concentração ($4,80 \text{ g L}^{-1}$) de CNCs ou CNFs, os quais apresentaram resultados mais promissores quando comparado aos demais sistemas estudados neste trabalho.

Tabela 3.4 – Resumo dos principais resultados obtidos para os sistemas de 50 mM NaDC e/ou NaTDC contendo $4,80 \text{ g L}^{-1}$ de CNCs ou CNFs e potenciais aplicações desses nanomateriais.

NaDC							
Sistema	Tamanho (nm)	PZ (mV)	η_0 (Pas)	G_0 (Pa)	Inclinação (α)	Morfologia	Aplicações
CNC	470,4	-53,2	4,255	—	-2,2	Lamelar a esférica	Sistemas injetáveis; Espessantes e emulsificantes
CNF	596,1	-46,8	1993	210,1	-1,91	Cilíndrica e lamelar	Hidrogéis para liberação de fármacos
NaTDC							
Sistema	Tamanho (nm)	PZ (mV)	η_0 (Pas)	G_0 (Pa)	Inclinação (α)	Morfologia	Aplicações
CNC	2454	-52,5	9,578	—	-1,6	Cilíndrica pouco alongada	Sistemas injetáveis; Espessantes e emulsificantes
CNF	1780	-68,0	42,75	22,58	-0,88	Cilíndrica mais alongada	Géis e base para cremes e pomadas
NaDC/NaTDC							
Sistema	Tamanho (nm)	PZ (mV)	η_0 (Pas)	G_0 (Pa)	Inclinação (α)	Morfologia	Aplicações
CNC	209,2	-52,3	0,9422	—	-1,8	Cilíndrica curta	Sistemas injetáveis; Espessantes e emulsificantes
CNF	304,2	-60,3	3207	2011	-0,5	Cilíndrica bem alongada	Hidrogéis fortes para uso cosmético e farmacêutico.

Fonte: Autoria própria (2024).

CAPÍTULO 4

Considerações Finais

4.1 CONCLUSÕES

A mistura entre os surfactantes (NaDC e/ou NaTDC) e dispersões de nanocelulose (CNCs ou CNFs), em diferentes concentrações e proporções, leva a formação de agregados de diversos tamanhos. Em geral, os agregados mistos de NaDC/nanocelulose, NaTDC/nanocelulose ou NaDC/NaTDC/nanocelulose formados são maiores que os agregados de surfactante ou nanocelulose puros, sendo que a adição de CNCs ou CNFs desempenhou um papel importante na possível formação de agregados com diferentes estruturas. As dispersões coloidais obtidas pela mistura de surfactante/nanocelulose, apresentaram, no geral, sistemas mais estáveis conforme o incremento de nanocelulose, sendo que as amostras contendo NaTDC e NaDC/NaTDC em quantidade equimolar (50 mM), apresentaram valores de PZ mais negativos e menores que -35 mV.

As curvas de fluxo dos sistemas estudados apresentam dois fenômenos reológicos característicos de fluidos não-Newtonianos, a saber, o *shear thinning* devido ao alinhamento dos agregados nos sistemas e o *shear thickening*, devido ao crescimento de agregados induzidos pelo cisalhamento. O aumento da concentração de sal de bile não garante melhor estruturação dos sistemas, porque os sistemas contendo maior concentração de NaDC (100 mM) apresentaram menores valores de viscosidade de repouso (η_0) e, inclusive, menor estabilidade coloidal quando comparado aos sistemas de 50 mM desse surfactante. Os sistemas binários com quantidades equimolares dos sais de bile foram mais efetivos na estruturação dos sistemas, provavelmente devido à maior disponibilidade dos agregados de sais de bile para interação com a nanocelulose.

As nanopartículas de celulose desempenharam um papel importante na estruturação dos sistemas. O incremento de CNFs permitiu maior entrelaçamento entre os agregados. As amostras de sal de bile/CNF são, em geral, mais estruturadas e mais viscoelásticas do que os sistemas formados com CNCs. A adição das CNFs nos autoagregados de sais de bile indica a formação de estruturas auto-organizadas cilíndricas mais longas em comparação com as amostras com CNCs.

Por fim, a quantidade de CNCs ou CNFs adicionada aos autoagregados de sais de bile pôde modular a forma, dimensão e, conseqüentemente, a viscoelasticidade dos agregados, contribuindo para a formação de diferentes nanomateriais de fácil acesso, baixo custo e baixa toxicidade, promissores para aplicações como modificadores reológicos ou encapsulação de espécies de interesse, importantes para diversos setores. Na indústria de cosméticos, por exemplo, os sistemas mais viscoelásticos, como os contendo CNFs, podem ser utilizados na confecção de géis de limpeza de pele com liberação de vitaminas, ou cremes de hidratação corporal. Sistemas menos viscoelásticos, como os contendo CNCs, mas estáveis e estruturados, podem ser importantes emulsificantes e estabilizantes a serem utilizados na indústria alimentícia. Há ainda uso promissor no desenvolvimento de tintas com o intuito de se modular os parâmetros reológicos do material, dependendo do substrato em que serão aplicadas.

4.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudos futuros envolverão mudanças de parâmetros físico-químicos, como pH e temperatura, com o intuito de se observarem mudanças na viscoelasticidade dos agregados de sais de bile/nanocelulose. Os resultados podem ser promissores para a elaboração de sistemas injetáveis de liberação controlada de medicamentos e confecção de géis ou cremes para a indústria de cosméticos. A utilização das nanoceluloses com carga superficial neutra ou positiva pode ser promissora para a elaboração de novos nanomateriais com estruturas diversas. Ademais, o estudo com diferentes sais de bile e sistemas ternários desses surfactantes misturados com nanocelulose, podem contribuir para um melhor entendimento de interações intermoleculares estabelecidas entre as espécies químicas e como elas interferem nos parâmetros reológicos dos sistemas obtidos.

REFERÊNCIAS

- AAEN, R. *et al.* The potential of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils as rheology modifiers in food systems. **Cellulose**, v. 26, p. 5483–5496, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02448-3>.
- ABID, N. *et al.* Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: a review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 300, p. 102597, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102597>
- ABOZEID, R. E., KHIARI, R., EL-WAKIL, N., DUFRESNE, A. Current state and new trends in the use of cellulose nanomaterials for wastewater treatment. **Biomacromolecules**, v. 20, p. 573-597, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00839>.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – wheat straw and soy hulls. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 6, p. 1664-1671, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.029>.
- ANDRADE, D. R. *et al.* Assessment of Nano Cellulose from Peach Palm Residue as Potential Food Additive: Part II: Preliminary Studies. **J. Food Sci. Technol.**, v. 52, p. 5641-5650, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1684-0>.
- ANIRUDHAN, T. S.; MANJUSHA, V.; CHITHRA SEKHAR, V. A new biodegradable nano cellulose-based drug delivery system for pH-controlled delivery of curcumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 2044-2054, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.010>.
- ARAUJO, L. V.; FREIRE, D. M. G.; NITSCHKE, M. Biossurfactantes: propriedades anticorrosivas, antibiofilmes e antimicrobianas. **Química Nova**, v. 36, n. 6, p. 848-858, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000600019>.
- AUBREY, M. L. *et al.* Directed assembly of layered perovskite heterostructures as single crystals. **Nature**, v. 597, n. 7876, p. 355-359, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03810-x>.
- AZUM, N.; RUB, M. A.; ASIRI, A. M. Bile salt–bile salt interaction in mixed monolayer and mixed micelle formation. **J. Chem. Thermodynamics**, v. 128, p. 406-414, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.08.030>.
- AZUM, N.; RUB, M. A.; ASIRI, A. M. Association behavior of bile salts binary mixtures in an aqueous system: A tensiometric and fluorometric study. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 33, p. e4015, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/poc.4015>.
- BARNES H. A.; HUTTON J. F.; WALTERS K. F. R. S., **An Introduction to Rheology**, 3^aed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1993.
- BASHYAL, S.; SEO, J. E.; CHOI, Y. W.; LEE, S. Bile acid transporter-mediated oral absorption of insulin via hydrophobic ion-pairing approach. **Journal of Controlled Release**, v. 338, p. 644-661, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.08.060>.
- BECK-CANDANEDO, S.; ROMAN, M.; GRAY, D. G. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 2, p. 1048-1054, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm049300p>.

- BEG, S. *et al.* Implications of phospholipid-based nanomixed micelles of olmesartan medoxomil with enhanced lymphatic drug targeting ability and systemic bioavailability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 62, p. 102273, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102273>.
- BHATTACHARJEE, J. *et al.* Tween 80– sodium deoxycholate mixed micelles: Structural characterization and application in doxorubicin delivery. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 49, p. 16414-16421, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp108225r>.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential—what they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337-351, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>.
- BHUSHAN, B. Introduction to nanotechnology. *In: Springer handbooks*. Springer; 2017. p. 1–19. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-662-54357-3_1.
- BOYER, J. L. Bile formation and secretion. **Comprehensive Physiology**, v. 3, n. 3, p. 1035-1078, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/cphy.c120027>.
- CALLE-GIL, R., CASTILLO-MARTÍNEZ, E., CARRETERO-GONZÁLEZ, J. Cellulose Nanocrystals in Sustainable Energy Systems. **Advanced Sustainable Systems**, p. 2100395, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/adsu.202100395>.
- CAMARGOS, C. H. M. *et al.* Strategies to mitigate the synergistic effects of moist-heat aging on TEMPO-oxidized nanocellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v. 200, p. 109943, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.109943>.
- CAMARGOS, C. H.; REZENDE, C. A. Structure–Property Relationships of Cellulose Nanocrystals and Nanofibrils: Implications for the Design and Performance of Nanocomposites and All-Nanocellulose Systems. **ACS Applied Nano Materials**, v. 4, n. 10, p. 10505-10518, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnanm.1c02008>.
- CAN, A.; TYLER, A. I.; MACKIE, A. R. Potential use of bile salts in lipid self-assembled systems for the delivery of phytochemicals. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 56, p. 101502, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101502>.
- CAREY, M. C.; SMALL, D. M. Micelle formation by bile salts: physical-chemical and thermodynamic considerations. **Arch Intern Med**, v. 130, n. 4, p. 506-527, 1972. DOI: <https://doi.org/10.1001/archinte.1972.03650040040005>.
- CATES M. E.; CANDAU S. J. Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 2, p. 6869-6892, 1990. DOI: <https://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/2/33/001>.
- CHEN, S.; DONG, H.; YANG, J. Surface potential/charge sensing techniques and applications. **Sensors**, v. 20, n. 6, p. 1690, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20061690>.
- CHEN, Y. *et al.* Implications of surfactant hydrophobic chain architecture on the Surfactant-Skin lipid model interaction. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 608, p. 405-415, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.09.098>.
- CHEN, Y. *et al.* Liquid Transport and Real-Time Dye Purification via Lotus Petiole-Inspired Long-Range-Ordered Anisotropic Cellulose Nanofibril Aerogels. **ACS Nano**, v. 15, p. 20666-20677, 2021a. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c10093>.
- CHEN, Y. *et al.* Recent Progress on Nanocellulose Aerogels: Preparation, Modification, Composite Fabrication, Applications. **Advanced Materials**, v. 33, p. 2005569, 2021b. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.202005569>.

- CHENG, M. *et al.* One-step in-situ green synthesis of cellulose nanocrystal aerogel-based shape stable phase change material. **Chemical Engineering Journal**, v. 431, p. 133935, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.133935>.
- CHIANG, J. Y. L.; FERREL, J. M. Bile Acids as Metabolic Regulators and Nutrient Sensors. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 39, p. 175-200, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082018-124344>.
- CHU, Z.; DREISS, C. A.; FENG, Y. Smart Wormlike Micelles. **Chem. Soc. Rev.**, v. 42, p. 7174-7203, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CS35490C>.
- CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta Potential Measurement. *In*: MCNEIL, S. (org.) **Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery**. Methods in Molecular Biology, v. 697. Humana Press, 2011. p. 63-70. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-198-1_6
- DAS, S.; GHOSH, B.; SARKAR, K. Nanocellulose as sustainable biomaterials for drug delivery. **Sensors International**, v. 3, p. 100135, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2021.100135>.
- DE GENNES, P. G. **Introduction to polymer dynamics**, Cambridge University Press, Cambridge, 1990.
- DI GREGORIO, M. C.; CAUTELA, J.; GALANTINI, L. Physiology and physical chemistry of bile acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1780, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22041780>.
- DI GREGORIO, M. *et al.* Bile acid derivative-based catanionic mixtures: versatile tools for superficial charge modulation of supramolecular lamellae and nanotubes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 20, n. 28, p. 18957-18968, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8CP02745E>.
- DI GREGORIO, M. *et al.* Supramolecular assembly of a thermoresponsive steroidal surfactant with an oppositely charged thermoresponsive block copolymer. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 2, p. 1504-1515, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6CP05665B>.
- DIMIC-MISIC, K.; GANE, P. A. C.; PALTAKARI, J. Micro and Nanofibrillated Cellulose as a Rheology Modifier Additive in CMC-Containing Pigment-Coating Formulations. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 52, p. 16066-16083, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/ie4028878>.
- DISALVO, A.; FRIAS, M. A. Surface Characterization of Lipid Biomimetic Systems. **Membranes**, v. 11, n. 11, p. 821, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/membranes11110821>.
- DO, T. T. A. *et al.* A nanocelulose-based platform towards target chemo-photodynamic/photothermal cancer therapy. **Carbohydrate Polymers**, v. 270, p. 118366, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118366>.
- DU, G. *et al.* Effect of temperature on the association behavior in aqueous mixtures of an oppositely charged amphiphilic block copolymer and bile salt. **Polymer**, v. 206, p. 122871, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122871>.
- DUFRESNE, A. Nanocellulose Processing Properties and Potential Applications. **Current Forestry Reports**, v. 5, p. 76-89, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40725-019-00088-1>.
- DUFRESNE, A.; CAVAILLE, J. -Y., VIGNON, M. R. Mechanical behavior of sheet prepared from sugar beet cellulose microfibrils. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 64, n. 6, p.

1185-1194, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19970509\)64:6%3C1185::AID-APP19%3E3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970509)64:6%3C1185::AID-APP19%3E3.0.CO;2-V).

DUNCAN, D. I.; PALMER, M. Fat reduction using phosphatidylcholine/sodium deoxycholate injections: standard of practice. **Aesth Plast Surg**, v. 32, p. 858-872, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00266-008-9188-9>.

DURNÍK, R. *et al.* Bile Acids Transporters of Enterohepatic Circulation for Targeted Drug Delivery. **Molecules**, v. 27, p. 2961, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27092961>.

ESMAEILI, H. *et al.* Chapter 7 - Application of biosurfactants in the removal of oil form emulsion. *In*: INAMUDDIN; ADETUNJI, C. O. (org.). **Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science**. Elsevier, 2021, p. 107-127. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822696-4.00008-5>.

FAN, Y.; WANG, Y. Applications of small-angle X-ray scattering/small-angle neutron scattering and cryogenic transmission electron microscopy to understand self-assembly of surfactants. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 42, p. 1-16, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.02.011>.

FANG, L.; SEIFERT, S.; WINANS, R. E.; LI, T. Understanding Synthesis and Structural Variation of Nanomaterials Through in Situ/Operando XAS and SAXS. **Small**, p. 2106017, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.202106017>,

FAUSTINO, C. M *et al.* Mixed micelle formation between an amino acid-based anionic gemini surfactant and bile salts. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 24, p. 10112-10118, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/ie5003735>.

FELIPE, L. O.; DIAS, S. C. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. **Quim. nova esc.**, v. 39, n. 3, p. 228-236, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160079>.

FERREIRA, J. O. *et al.* Zein and hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate microfibers combined with metronidazole benzoate and/or metronidazole-incorporated cellulose nanofibrils for potential periodontal treatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 261, p. 129701, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129701>.

FRANCISCO, K. R.; DA SILVA, M. A.; SABADINI, E.; KARLSSON, G.; DREISS, C. A. Effect of monomeric and polymeric co-solutes on cetyltrimethylammonium bromide wormlike micelles: Rheology, Cryo-TEM and Small-angle neutron scattering. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 345, n. 2, p. 351-359, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.01.086>.

FRENCH, A. D. Glucose, not cellobiose, is the repeating unit of cellulose and why that is important. **Cellulose**, v. 24, p. 4605-4609, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1450-3>.

GOODWIN J. W., HUGHES R. W. **Rheology for chemists-An introduction**. The Royal Society of Chemistry, London, 2000.

HASSAN, P. A.; RANA, S.; VERMA, G. Making sense of Brownian motion: colloid characterization by dynamic light scattering. **Langmuir**, v. 31, n. 1, p. 3-12, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/la501789z>.

- HEUMAN, D. M. Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions. **Journal of Lipid Research**, v. 30, p 719-730, 1989. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)38331-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)38331-0).
- HOI-FANG TAN; OOI, B. S.; LEO, C. P. Future perspectives of nanocellulose-based membrane for water treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 37, p. 101502, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101502>.
- HOLM, R.; MÜLLERTZ, A.; MU, H. Bile salts and their importance for drug absorption. *Int. J. Pharm.*, v. 453, p. 44-55, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.003>.
- HOLMBERG, K. *et al.* Chapter 1 – Introduction to Surfactants. *In: HOLMBERG, K.; KRONBERG, B.; LINDMAN, B. (orgs.). Surfactant and Polymers in Aqueous Solutions.* 2a ed. Jhon Wiley Sons, 2002, p. 1-37, DOI: <https://doi.org/10.1002/0470856424.ch1>.
- HOLMBERG, K. *et al.* Chapter 15 – An Introduction to the Rheology of Polymer and Surfactant Solutions. *In: HOLMBERG, K.; KRONBERG, B.; LINDMAN, B. (orgs.). Surfactant and Polymers in Aqueous Solutions.* 2a ed. Jhon Wiley Sons, 2002, p. 317-335. DOI: <https://doi.org/10.1002/0470856424.ch15>.
- JAFARI, S.; SILLANPÄÄ, M. Chapter 2 - Adsorption of dyes onto modified titanium dioxide. *In: SILLANPÄÄ, M. (org.). Advanced Water Treatment: adsorption.* Elsevier, 2020, p. 85-160. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819216-0.00002-3>.
- JAKOB, M. *et al.* The Strength and Stiffness of Oriented Wood and Cellulose-Fibre Materials: A Review. **Progress in Materials Science**, p. 100916, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2021.100916>.
- JORA, M. Z.; SABADINI, E.; RAGHAVAN, S. R. Light-Triggered Rheological Changes in a System of Cationic Wormlike Micelles Formulated with a Photoacid Generator. **Langmuir**, v. 36, n. 45, p. 13408-13414, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01439>.
- JOVER, A., FRAGA, F., MEIJIDE, F., TATO, J. V. *et al.* Revealing the complex self-assembly behaviour of sodium deoxycholate in aqueous solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 604, p. 415-428, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.140>.
- KANAZAWA, S. *et al.* Self-Assembly of Surfactin into Nanofibers with Hydrophilic Channels in Nonpolar Organic Media. **Langmuir**, v. 36, n. 26, p. 7627-7633, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01271>.
- KELLY, P. V.; GARDNER, D. J.; GRAMLICH, W. M. Optimizing lignocellulosic nanofibril dimensions and morphology by mechanical refining for enhanced adhesion. **Carbohydrate Polymers**, v. 273, p. 118566, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118566>.
- KIM, N. D.; IM, E.; YOO, Y. H.; CHOI, Y. H. Modulation of the Cell Cycle and Induction of Apoptosis in Human Cancer Cells by Synthetic Bile Acids. **Current Cancer Drug Targets**, v. 6, p. 681-689, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2174/156800906779010236>.
- KING, J. L.; MATURAVONGSADIT, P.; HINGTGEN, S. D.; BENHABBOUR, S. R. Injectable pH Thermo-Responsive Hydrogel Scaffold for Tumoricidal Neural Stem Cell Therapy for Glioblastoma Multiforme. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 2243, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102243>.
- KONG, J. *et al.* Hydrophobic interaction of four bile salts with hemoglobin induces unfolding of protein and evades protein degeneration induced by urea. **Journal of Molecular Liquids**, v. 375, p. 121395, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121395>.

- LAVOINE, N. *et al.* Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 735-764, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.026>.
- LE, N. T. T.; CAO, V. D.; NGUYEN, T. N. Q.; LE, T. T. H.; TRAN, T. T.; HOANG THI, T. T. Soy lecithin-derived liposomal delivery systems: Surface modification and current applications. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, p. 4706, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fijms20194706>.
- LENGOWSKI, E. C.; JUNIOR, E. A. B. Nanocelulose: Aplicações Na Indústria De Base Florestal. In: BETHLEM, N. **Sustentabilidade de Recursos Florestais 2**. Ponta Grossa - PR: Atena, 2019. cap. 18, p. 155-164.
- LI, G.; MCGOWN, L. B. A new approach to polydispersity studies of sodium taurocholate and sodium taurodeoxycholate aggregates using dynamic fluorescence anisotropy. **J. Phys. Chem.**, v. 97, n. 25, p. 6745-6752, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1021/j100127a028>.
- LI, H. *et al.* Robust multifunctional superhydrophobic, photocatalytic and conductive fabrics with electro-/photo-thermal self-healing ability. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 614, p. 1-11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.01.090>.
- LING, D. Dynamic nanoassembly-based drug delivery systems on the horizon. **Journal of Controlled Release**, v. 339, p. 547-552, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.08.045>
- LIU, C. *et al.* Properties of Nanocelluloses and Their Application as Rheology Modifier in Paper Coating. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 56, p. 8264–8273, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.7b01804>.
- LIU, C. F. *et al.* Homogeneous modification of sugarcane bagasse cellulose with succinic anhydride using a ionic liquid as reaction medium. **Carbohydrate Research**, v. 342, p. 919–926, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.02.006>.
- LIU, L., KONG, F. In vitro investigation of the influence of nano-fibrillated cellulose on lipid digestion and absorption. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 361-366, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.189>.
- LIZUNDIA, E.; PUGLIA, D.; NGUYEN, T.; ARMENTANO, I. Cellulose nanocrystal based multifunctional nanohybrids. **Progress in Materials Science**, v. 112, p. 100668, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2020.100668>.
- LU, P.; HSIEH, Y. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: rods, spheres, and network. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 329-336, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.073>.
- MACHADO, B. A. S. *et al.* Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Cienc. Rural**, v. 42, n. 11, p. 2085-2091, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012001100028>.
- MACIERZANKA, A. *et al.* Bile salts in digestion and transport of lipids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 274, p. 102045, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102045>.
- MACOSKO C. W. **Rheology: Principles, Measurements and Applications**, Wiley-VCH, New York, 1994.

- MADENCI, D.; EGELHAAF, S. U. Self-assembly in aqueous bile salt solutions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, n. 1-2, p. 109-115, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.010>.
- MARIÑO, M. A.; REZENDE, C. A.; TASIC, L. A multistep mild process for preparation of nanocellulose from orange bagasse. **Cellulose**, v. 25, n. 10, p. 5739–5750, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1977-y>.
- MARIÑO, M.; SILVA, L. L.; DURÁN, N.; TASIC, L. Enhanced Materials from Nature: Nanocellulose from Citrus Waste. **Molecules (Basel. Online)**, v. 20, p. 5908 - 5923, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules20045908>.
- MASLOVA, V. A.; KISELEV, M. A. Structure of Sodium Cholate Micelles. **Crystallography Reports**, v. 63, n. 3, p. 472-475, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1063774518030173>.
- MASWAL, M.; DAR, A. A. Mixed micelles of sodium cholate and Brij30: Their rheological behaviour and capability towards solubilization and stabilization of rifampicin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 436, p. 704-713, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.07.039>.
- MCDOWALL, D.; SEDDON, A.; ADAMS, D. Using small angle scattering to understand low molecular weight gels. **Soft Matter**, v. 18, p. 1577-1590, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1SM01707A>.
- MEKKAoui, A. *et al.* Effect of Bile Salts on the Interfacial Dilational Rheology of Lecithin in the Lipid Digestion Process. **J. Oleo Sci.**, v. 70, n. 8, p. 1069-1080, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5650/jos.ess21081>.
- MISSOUM, K.; BELGACEN, N.; BRAS, J. Nanofibrillated Cellulose Surface Modification: A Review. **Materials**, p. 1745 – 1766, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma6051745>.
- MOGHIMIPOUR, E.; AMERI, A.; HANDALI, S. Adsorption-Enhancing Effects of Bile Salts. **Molecules**, v. 20, p. 14451-14473, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules200814451>.
- MOLDES, A. *et al.* Chapter 8 - Biosurfactants: the use of biomolecules in cosmetics and detergents. *In*: RODRIGUES, A. G. (org.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, 2020, p. 163-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64301-8.00008-1>.
- MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: Structure, properties, and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, p. 3941–3994, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/C0CS00108B>.
- MUKHERJEE, B. *et al.* Micellization and adsorption behavior of bile salt systems. **RSC Advances**, v. 6, n. 3, p. 1769-1781, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5RA20909A>.
- NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, p. 38–45, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.099>.
- NASROLLAHZADEH, M. *et al.* An introduction to nanotechnology. *In*: **Interface science and technology**. 28. Elsevier B.V; 2019. p. 1–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813586-0.00001-8>.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.

- NEMATİ, M. *et al.* Bile acid-based advanced drug delivery systems, bilosomes and micelles as novel carriers for therapeutics. **Cell Biochemistry & Function**, v. 40, p. 623-635, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbf.3732>.
- PABOIS, O. *et al.* Interactions of bile salts with a dietary fibre, methylcellulose, and impact on lipolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 231, p. 115741, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115741>.
- PABOIS, O. *et al.* Morphology of bile salts micelles and mixed micelles with lipolysis products from scattering techniques and atomistic simulations. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 587, p. 522-537, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.10.101>.
- PADSALA, S. *et al.* Mixed micelles of sodium perfluorooctanoate and imidazolium based ionic liquids in aqueous solution: A SANS and Tensiometric study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 322, p. 114558, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114558>.
- PAUL, R.; BALARAM, P. A fluorescent probe study of the solubilization of cholesterol by bile salt-phospholipid micelles. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 81, n. 3, p. 850-857, 1978. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(78\)91429-8](https://doi.org/10.1016/0006-291x(78)91429-8).
- PENG, B. L. *et al.* Chemistry and Applications of Nanocrystalline Cellulose and its Derivatives: a nanotechnology perspective. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 363, p. 206–212, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/cjce.20554>.
- PERCEBOM, A. M.; COSTA, L. H. M. Formation and assembly of amphiphilic Janus nanoparticles promoted by polymer interactions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 269, p. 256-269, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.05.001>.
- PEREIRA, F. V. *et al.* Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiação. **Química Nova**, v. 37, n. 7, p. 1209-1219, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140141>.
- PHAN, V. H. *et al.* Cellulose Nanocrystals-Incorporated Thermo sensitive Hydrogel for Controlled Release, 3D Printing, and Breast Cancer Treatment Applications. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v. 14, p. 42812–42826, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.2c05864?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>.
- PIGLIACELLI, C. *et al.* Probing the molecular interactions between pharmaceutical polymeric carriers and bile salts in simulated gastrointestinal fluids using NMR spectroscopy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 551, p. 147-154, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.05.002>.
- POŠA, M.; ĆIRIN, D. Mixed Micelles of Sodium Salts of Bile Acids and Tween 40: Effect of the Steroid Skeleton on the Coefficient of Interaction in Mixed Micelles. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 51, p. 14722-14728, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/ie301648h>.
- POSBEYIKIAN, A. *et al.* Evaluation of calcium alginate bead formation kinetics: An integrated analysis through light microscopy, rheology and microstructural SAXS. **Carbohydrate Polymers**, v. 269, p. 118293, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118293>.
- RABÓCZKAY, T. **Físico-Química de Interfaces**. 1. ed. São Paulo: Edusp, 2016. 208 p.
- RADHAWA, A. *et al.* A Review of Properties of Nanocellulose, Its Synthesis, and Potential in Biomedical Applications. **Appl. Sci.**, v. 12, p. 7090, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/app12147090>.

- RAMESH, M.; SAKTHISHOBANA, K. Chapter 11 - Significance of biosurfactants in oil recovery and bioremediation of crude oil. *In: INAMUDDIN; ADETUNJI, C. O. (org.). Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*. Elsevier, 2021, p. 211-226. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822696-4.00006-1>.
- RATHOD, S. *et al.* Changes in aggregation properties of TPGS micelles in the presence of sodium cholate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 610, p. 125938, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125938>.
- REN, X. *et al.* Fire-retardant and thermal insulating cellulose nanofibril aerogel modified by in-situ supramolecular assembly of melamine and phytic acid. **Advanced Engineering Materials**, 2101534, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/adem.202101534>.
- RESCHLY, E. *et al.* Evolution of bile salt nuclear receptor FXR in vertebrates. **Journal of Lipid Research**, v. 49, p. 1577- 1587, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.M800138-JLR200>.
- RODA, A. *et al.* Experimental evaluation of a model for predicting micellar composition and concentration of monomeric species in bile-salt binary-mixtures. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 84, n. 5, p. 593-598, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.2600840514>.
- ROL, F. *et al.* Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. **Progress in Polymer Science**, v. 88, p. 241-264, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2018.09.002>.
- SEHAQUI, H. *et al.* Nanoparticles capture on cellulose nanofiber depth filters. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 482-489, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.068>.
- SELVAMANI, V. Stability Studies on Nanomaterials Used in Drugs. *In: MOHAPATRA, S. S. et al. (orgs.). Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery*. Elsevier, 2019. p. 425-444. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814031-4.00015-5>.
- SEN, S. *et al.* Solvation Dynamics in Bile Salt Aggregates. **J. Phys. Chem. B**, v. 106, p. 7745-7750, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/j100127a028>.
- SENYIGIT, T.; TEKMEEN, I.; SÖNMEZ, Ü.; SANTI, P.; ÖZER, Ö. Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: In vitro and in vivo evaluation. **Int. J. Pharm.**, v. 403, p. 123–129, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.036>.
- SHAW, D. J. **Introdução à Química dos Coloides e de Superfícies**. Tradução: MAARR, J. H. São Paulo: Edgard Blücher, 1975.
- SILVA, I. A. *et al.* Production of cupcake-like dessert containing microbial biosurfactant as an emulsifier. **PeerJ**, v. 8, p. 9064, 2020. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.9064>.
- SILVA, R. *et al.* Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300010>.
- SINGH, K.; CHAUHAN, S. Temperature dependent micellar behaviour of sodium cholate and sodium deoxycholate in the presence of ceftriaxone sodium: A physicochemical study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 316, p. 113833, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113833>.
- SONG, K. H.; CHUNG, S. J.; SHIM, C. K. Enhanced intestinal absorption of salmon calcitonin (sCT) from proliposomes containing bile salts. **J. Control. Release**, v. 106, p. 298–308, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.05.016>.

- SOUZA, D. S. S. *et al.* The pH role in casein/carboxymethylcellulose nano/microparticles formation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 682, p. 132953, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.132953>.
- STAMP, D.; JENKINS, G. An overview of bile-Acid synthesis, chemistry and function. *In*: JENKINS, G.; HARDIE, L. J. (orgs.) **Bile Acids, Toxicology and Bioactivity**. Royal Society of Chemistry, Berlin: Springer, 2008, p. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.1039/9781847558336-00001>.
- SUN, L. *et al.* Soy Protein isolate/cellulose nanofiber complex gels as fat substitutes: rheological and textural properties and extent of cram imitation. **Cellulose**, v. 22, p. 2619-2627, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0681-4>.
- SUN, X. *et al.* Rheological properties of the gels of biological surfactant sodium deoxycholate/amino acids/halide salts systems. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 457, p. 345-353, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.06.003>.
- SUYS, E. J., *et al.* Computational models of the intestinal environment. 3. The impact of cholesterol content and pH on mixed micelle colloids. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 3684-3697, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00446>.
- SVERGUN, D. I.; KOCH, M. H. J. Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution. **Reports on Progress in Physics**, v. 66, p. 1375-1782, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1088/0034-4885/66/10/R05>.
- TAN, X. *et al.* Biointerfacial giant capsules with high paclitaxel loading and magnetic targeting for breast tumor therapy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 633, p. 1055-1068, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.11.151>
- TANAKA, T. *et al.* A potentiometric titration study on the dissociation of bile acids related to the mode of interaction between different head groups of nonionic surfactants with free bile salts upon mixed micelle formation in water. **Colloid and Polymer Science**, v. 273, n. 4, p. 392-398, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00652355>.
- TASNEEM, S. Tensiometric and thermodynamic Study of Aliphatic and Aromatic Amine in Aqueous D-Glucose Solutions: A Comparative Study. **Applied Sciences**, v. 13, p. 7102, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/>.
- VALENTA, C.; NOWACK, E.; BERNKOP-SCHNURCH, A. Deoxycholate-hydrogels: Novel drug carrier systems for topical use. **Int. J. Pharm.**, v. 185, p. 103–111, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(99\)00170-2](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(99)00170-2).
- VALLIM-AGUIAR, T. Q.; TARLING, E. J.; EDWARDS, P. A. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. **Cell Metab.**, v. 17, p. 657-669, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.013>.
- VERGNAT, V. *et al.* Iron Oxide/Polymer Core–Shell Nanomaterials with Star-like Behavior. **Nanomaterials**, v. 11, n. 9, p. 2453, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11092453>.
- WANG, P. *et al.* Characteristics of concentrated lignocellulosic nanofibril suspensions. **Cellulose**, v. 29, n. 1, p. 147-158, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04304-9>.
- WANG, X., FAN, M. Interaction behaviors and structural characteristics of zein/NaTC nanoparticles. **RSC Advances**, v. 9, n. 10, p. 5748-5755, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9RA00005D>

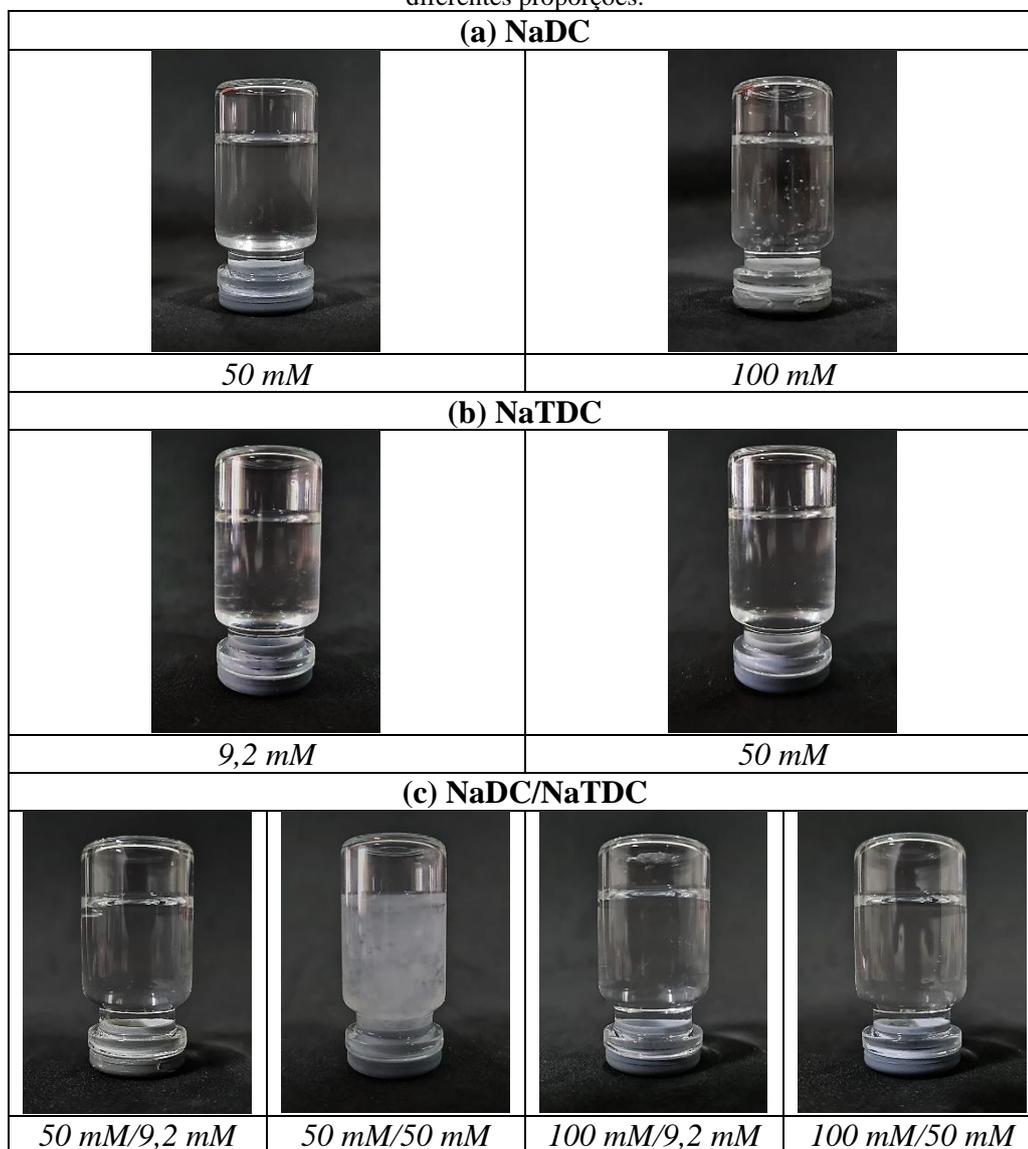
- WANG, Y.; FERNANDES, R. M.; MARQUES, E. F. From single gemini surfactants in water to cationic mixtures with the bile salt sodium taurodeoxycholate: Extensive micellar solutions, coacervation and liquid crystal polymorphism as revealed by phase behavior studies. **Journal of Molecular Liquids**, v. 285, p. 330-337, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.04.067>.
- WARREN, D. B. *et al.* Molecular dynamics simulations of spontaneous bile salt aggregation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 280, n. 1-3, p. 182-193, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.009>.
- WIEDMANN, T. S.; LIANG, W.; KAMEL, L. Solubilization of drugs by physiological mixtures of bile salts. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 8, p. 1203-1208, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1023/a:1019858428449>.
- XU, J. *et al.* Copolymer-Functionalized Cellulose Nanocrystals as a pH- and NIR-Triggered Drug Carrier for Simultaneous Photothermal Therapy and Chemotherapy of Cancer Cells. **Biomacromolecules**, v. 23, p. 4308-4317, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c00770>.
- YADAV, S. K.; PARIKH, K.; KUMAR, S. Mixed micelle formation of cationic gemini surfactant with anionic bile salt: a PAH solubilization study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 522, p. 105-112, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.048>.
- YANG, X. *et al.* Surface and Interface Engineering for Nanocellulosic Advanced Materials. **Advanced Materials**, v. 33, p. 2002264, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.202002264>.
- YUSEFI, M. *et al.* The Potential Anticancer Activity of 5-Fluorouracil Loaded in Cellulose Fibers Isolated from Rice Straw. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 5417-5432, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2147/ij.n.s250047>.
- ZAMBUZI, G. C. *et al.* Modulating the controlled release of hydroxychloroquine mobilized on pectin films through film-forming pH and incorporation of nanocellulose. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 2, p. 100140, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100140>.
- ZANETTI, M. R. L. *et al.* Improving in vitro biocompatibility of gold nanorods with thiol-terminated triblock copolymer. **Colloid and Polymer Science**, v. 297, n. 11, p. 1477-1487, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00396-019-04553-y>.
- ZANOL, G. S. *et al.* Efeito da adição de nanofibrilas de celulose de *Eucalyptus spp.* na produção de papéis de fibras recicladas. **BIOFIX Scientific Journal** v. 5, n. 1, p. 94-101, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v5i1.67982>.
- ZHANG, H. *et al.* Conversion of bile salts from inferior emulsifier to efficient smart emulsifier assisted by negatively charged nanoparticles at low concentrations. **Chemical Science**, v. 12, p. 11845-11850, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1SC02596A>.
- ZHANG, Q. *et al.* Self-Delivery Janus-Prodrug for Precise Immuno-Chemotherapy of Colitis-Associated Colorectal Cancer. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 14, p. 297-306, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.1c20031>.
- ZHAO, W.; WANG, H.; WANG, Y. Coacervation of dynamic covalent surfactants with polyacrylamides: properties and applications. **Soft Matter**, v. 14, p. 4178-4184, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8SM00773J>.

ZHU, G. *et al.* Feasibility of Coacervate-Like Nanostructure for Instant Drug Nanoformulation. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v. 15, p. 17485-17494, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.2c21586>.

ZUGHAIID, H. *et al.* Bile salt composition is secondary to bile salt concentration in determining hydrocortisone and progesterone solubility in intestinal mimetic fluids. **Int. J. Pharm.**, v. 422, v. 422, p. 295–301, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.11.012>.

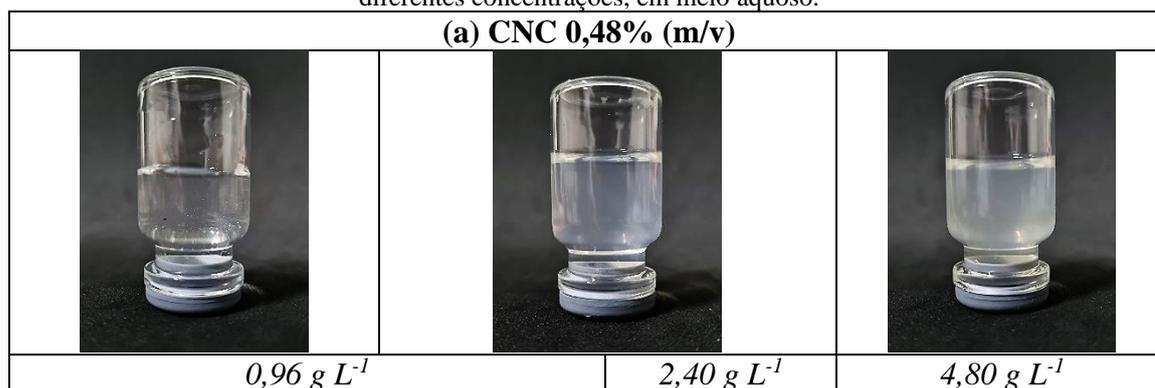
APÊNDICE A

Figura 1A - Fotografias das soluções de (a) NaDC, (b) NaTDC e (c) NaDC/NaTDC em diferentes proporções.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Figura 2A - Fotografias das dispersões estoque de (a) CNC 0,48% (m/v) e (b) CNF 0,7% (m/v), em diferentes concentrações, em meio aquoso.



(c) Controle CNF 0,7% (m/v)		
		
<i>0,96 g L⁻¹</i>	<i>2,40 g L⁻¹</i>	<i>4,80 g L⁻¹</i>

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

APÊNDICE B

Tabela 1B – Valores dos tamanhos de partículas, x , obtidos para as dispersões de CNC ou CNF em 0,96; 2,40 ou 4,80 g.L⁻¹, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

CNC			
Concentração (g L⁻¹)	Tamanho	Tamanho	Tamanho
	0,5 < x ≤ 100 nm	101 < x ≤ 650 nm	x > 651 nm
0,96 g L⁻¹	50,93 nm – 10%	248,2 nm – 90%	—
2,40 g L⁻¹	64,70 nm – 15%	278,9 nm – 85%	—
4,80 g L⁻¹	32,45 nm – 1,0%	126,6 nm – 18%	677,9 nm – 81%

CNF			
Concentração (g L⁻¹)	Tamanho	Tamanho	Tamanho
	0,5 < x ≤ 100 nm	101 < x ≤ 650 nm	x > 651 nm
0,96 g L⁻¹	83,05 nm – 38%	431,0 nm – 62%	—
2,40 g L⁻¹	48,02 nm – 25%	314,7 nm – 75%	—
4,80 g L⁻¹	23,22 nm – 19%	199,3 nm – 81%	—

Fonte: Autoria própria (2024).

Tabela 2B – Valores de PZ, em mV, para as dispersões de CNC e CNF a 0,96, 2,40 e 4,80 g L⁻¹.

PZ (mV)		
Nanocelulose (g L⁻¹)	CNC	CNF
0,96	-47,9 ± 9,45	-28,9 ± 3,45
2,40	-51,0 ± 7,24	-57,6 ± 7,43
4,80	-49,9 ± 4,13	-78,3 ± 6,82

Fonte: Autoria própria (2024).

Tabela 3B – Valores dos tamanhos de partículas, x , obtidos para as soluções dos sistemas binários de NaDC/ NaTDC nas diferentes proporções de surfactantes e dispersões após a adição de CNC ou CNF em 0,96; 2,40 ou 4,80 g L⁻¹, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

50 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho	Tamanho	Tamanho
	0,5 < x ≤ 100 nm	101 < x ≤ 650 nm	x > 651 nm
<i>50 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC</i>	1,344 nm – 23%	145,3 nm – 2,0%	843,9 nm – 75%
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	85,88 nm – 14%	598,4 nm – 86%	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNC</i>	86,68 nm – 15%	592,1 nm – 85%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNC</i>	5,347 nm – 42%	141,9 nm – 58%	—
<i>0,96 g L⁻¹ CNF</i>	2,799 nm – 6,0%	301,9 nm – 68%	—
	11,04 nm – 4,0%		
	48,13 nm – 22%		

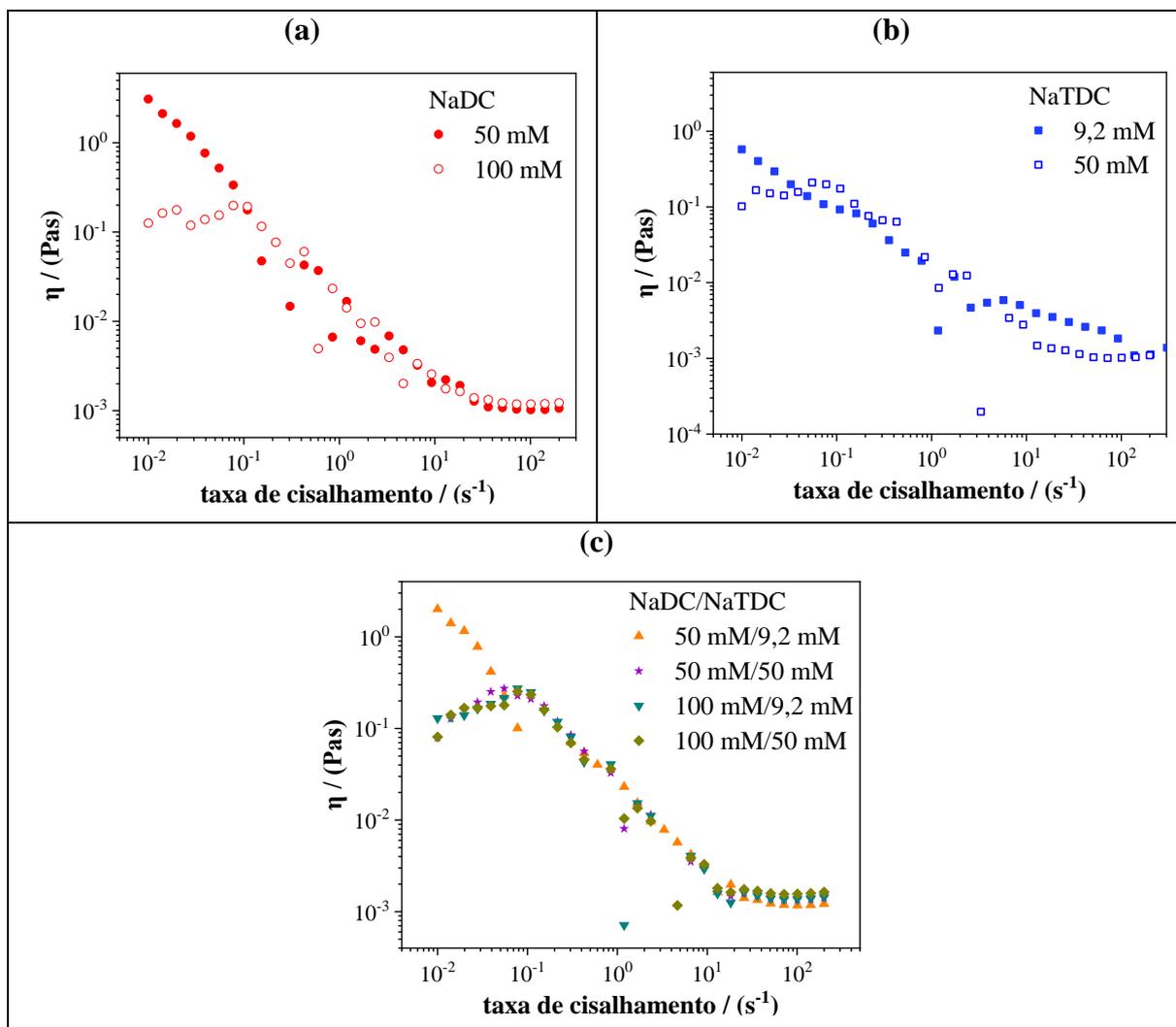
<i>2,40 g L⁻¹ CNF</i>	4,569 nm – 1,0 % 18,41 nm – 8,0%	171,4 nm - 91%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNF</i>	9,019 nm – 8,0% 59,17 nm – 41%	259,0 nm - 51%	—
50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho 0,5 < x ≤ 100 nm	Tamanho 101 < x ≤ 650 nm	Tamanho x > 651 nm
<i>50 mM NaDC/ 50 mM NaTDC</i>	1,623 nm – 18%	—	1356 nm – 82%
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	4,921 nm – 4,0% 10,79 nm – 5,0% 50,85 nm – 22%	246,6 nm - 69%	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNC</i>	8,006 nm – 22%	166,5 nm – 78%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNC</i>	4,558 nm – 6,0% 7,483 nm – 7,0% 16,08 nm – 4,0%	209,2 nm - 83%	—
<i>0,96 g L⁻¹ CNF</i>	2,764 nm – 5,0% 17,12 nm – 12%	230,1 nm – 83%	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNF</i>	1,434 nm – 6,0% 3,818 nm – 3,0% 14,74 nm – 4,0% 23,71 nm – 8,0%	293,5 nm - 79%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNF</i>	1,240 nm – 6,0% 3,764 nm – 5,0% 28,37 nm – 14%	304,2 nm – 75%	—
100 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho 0,5 < x ≤ 100 nm	Tamanho 101 < x ≤ 650 nm	Tamanho x > 651 nm
<i>100 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC</i>	1,413 nm – 56% 48,73 nm – 2,0%	—	807,8 nm – 42%
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	1,542 nm – 14% 24,73 nm – 3,0% 71,61 nm – 9,0%	280,5 nm – 29% 494,3 nm - 45%	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNC</i>	0,7094 nm – 2,0% 2,165 nm – 15% 10,03 nm – 30%	83,20 nm – 18% 266,5 nm – 35%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNC</i>	0,7181 nm – 3,0% 1,363 nm – 3,0% 4,203 nm – 2,0%	204,4 nm – 35% 363,6 – 42%	—

	9,818 nm – 7,0%		
	31,15 nm – 8,0%		
<i>0,96 g L⁻¹ CNF</i>	1,383 nm – 17%	306,9 nm – 83%	—
<i>2,40 g L⁻¹ CNF</i>	1,452 nm – 8,0%	324,7 nm - 92%	—
<i>4,80 g L⁻¹ CNF</i>	1,785 nm – 3,0%	262,3 nm - 85%	—
	50,62 nm – 12%		
100 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/Nanocelulose			
Sistemas	Tamanho 0,5 < x ≤ 100 nm	Tamanho 101 < x ≤ 650 nm	Tamanho x > 651 nm
<i>100 mM NaDC/ 50 mM NaTDC</i>	1,642 nm – 61%	128,4 nm – 5,0%	764,9 nm – 34%
<i>0,96 g L⁻¹ CNC</i>	1,998 nm - 44%	160,0 nm – 31%	—
	17,45 nm - 25%		
<i>2,40 g L⁻¹ CNC</i>	0,647 nm – 11,0%	317,0 nm – 9,0%	—
	10,65 nm - 47%		
	26,56 nm – 33%		
<i>4,80 g L⁻¹ CNC</i>	1,692 nm – 9,0%	—	—
	3,226 nm – 16%		
	24,36 nm – 22%		
	58,04 nm – 28%		
	77,44 nm - 25%		
<i>0,96 g L⁻¹ CNF</i>	1,703 nm – 9,0%	195,1 nm – 30%	—
	3,143 nm – 4,0%		
	22,82 nm - 29%		
	85,94 nm – 28%		
<i>2,40 g L⁻¹ CNF</i>	1,744 nm – 15%	114,3 nm – 30%	—
		510,2 nm - 55%	
<i>4,80 g L⁻¹ CNF</i>	0,7246 nm – 1,0%	192,8 nm – 53%	—
	1,593 nm – 5,0%		
	10,14 nm - 36%		
	18,65 nm – 5,0%		

Fonte: Autoria própria (2024).

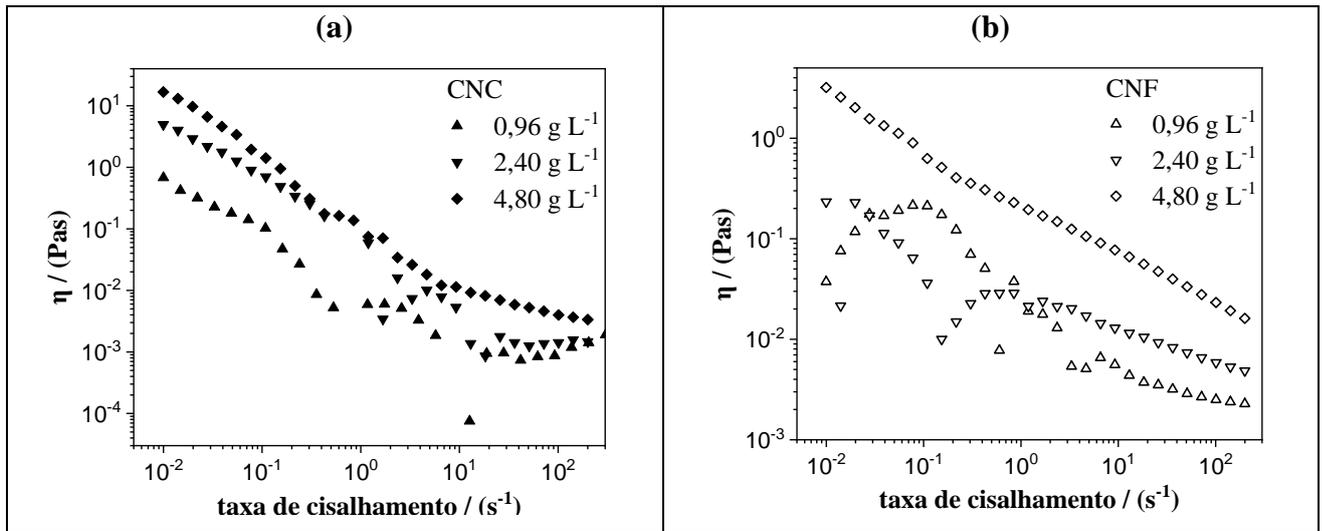
APÊNDICE C

Figura 1C – Curvas de fluxo das soluções de surfactantes nas diferentes concentrações de (a) NaDC, (b) NaTDC e (c) NaDC/NaTDC.



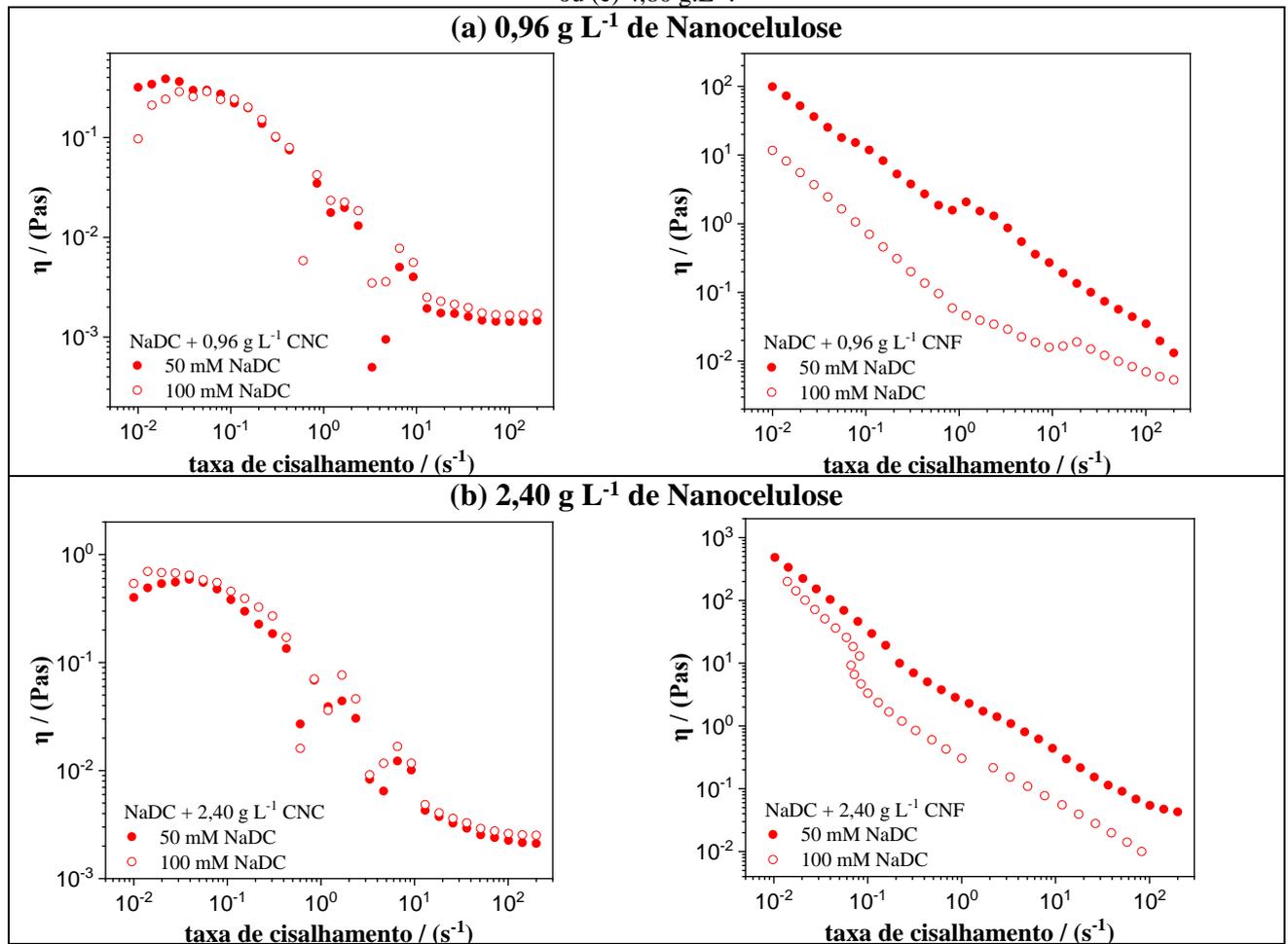
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 2C – Curvas de fluxo das dispersões de (a) CNC e (b) CNF nas diferentes concentrações estudadas.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 3C - Curvas de fluxo das amostras de NaDC/nanocelulose acrescidas de CNC ou CNF a (a) 0,96 g L^{-1} , (b) 2,40 g L^{-1} ou (c) 4,80 g L^{-1} .



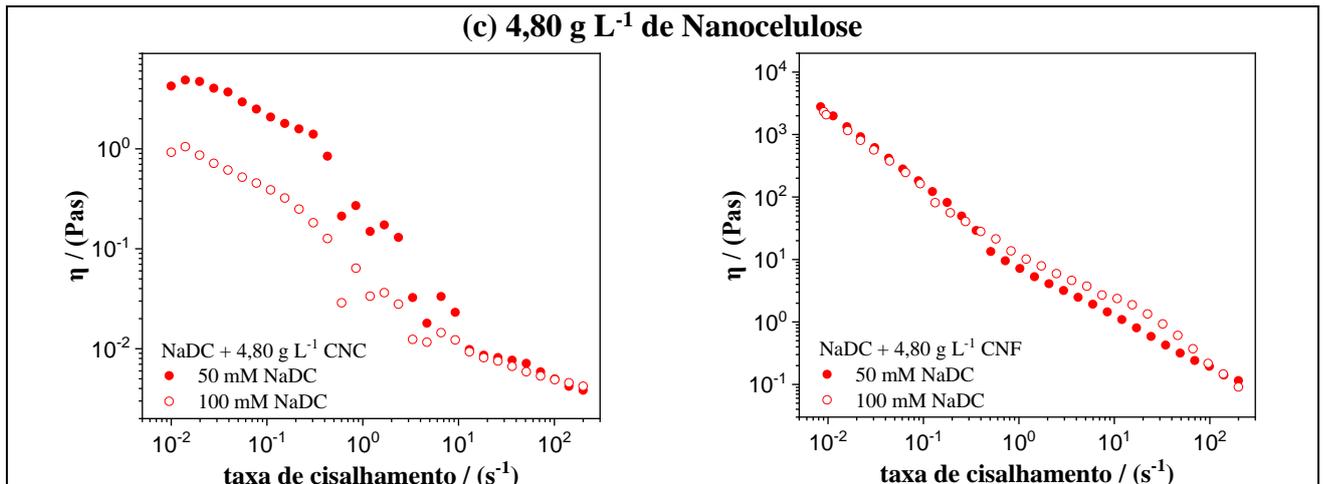
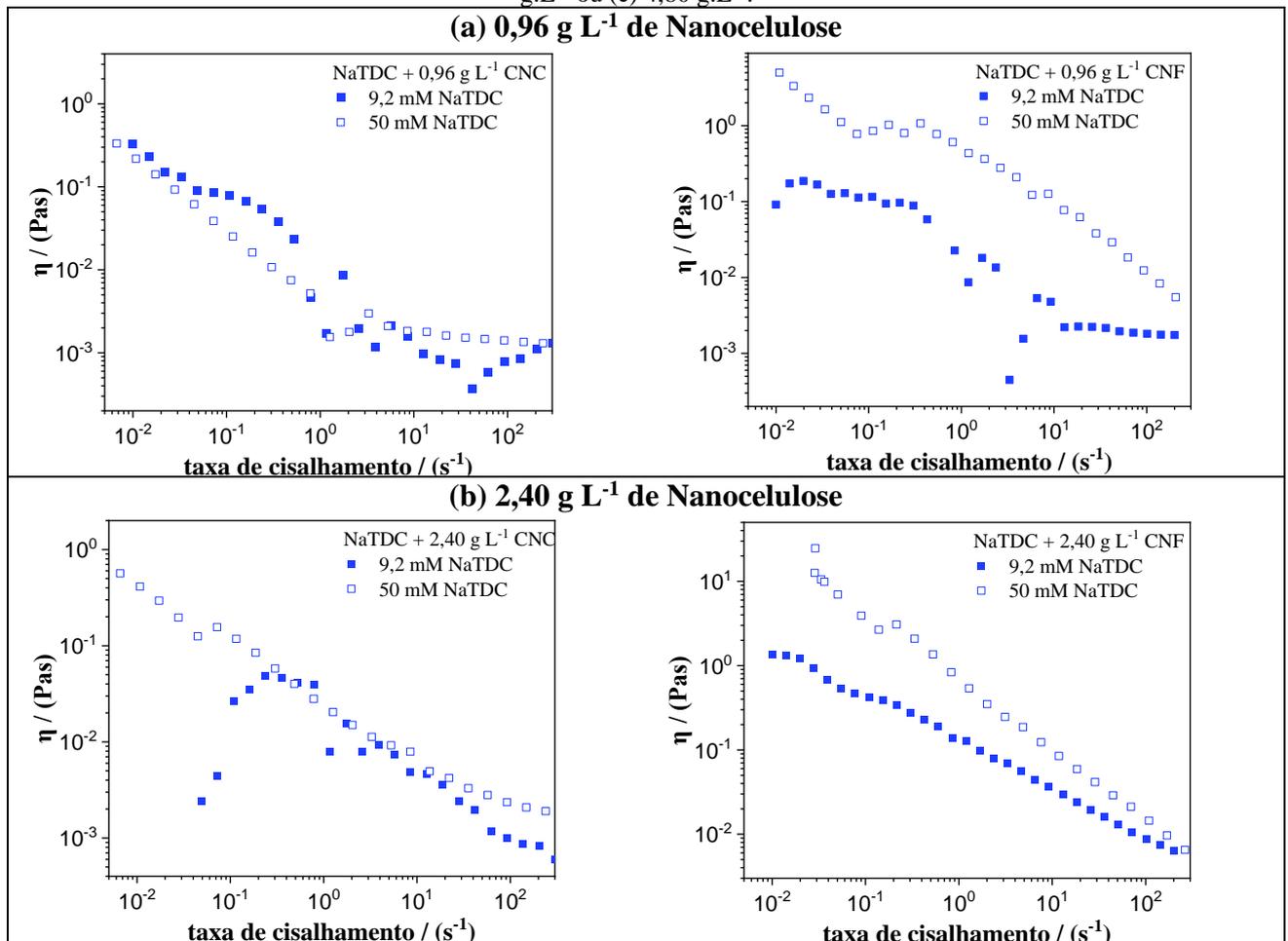


Figura 4C - Curvas de fluxo das amostras de NaTDC/nanocelulose acrescidas de CNC ou CNF a (a) 0,96 g.L⁻¹, (b) 2,40 g.L⁻¹ ou (c) 4,80 g.L⁻¹.



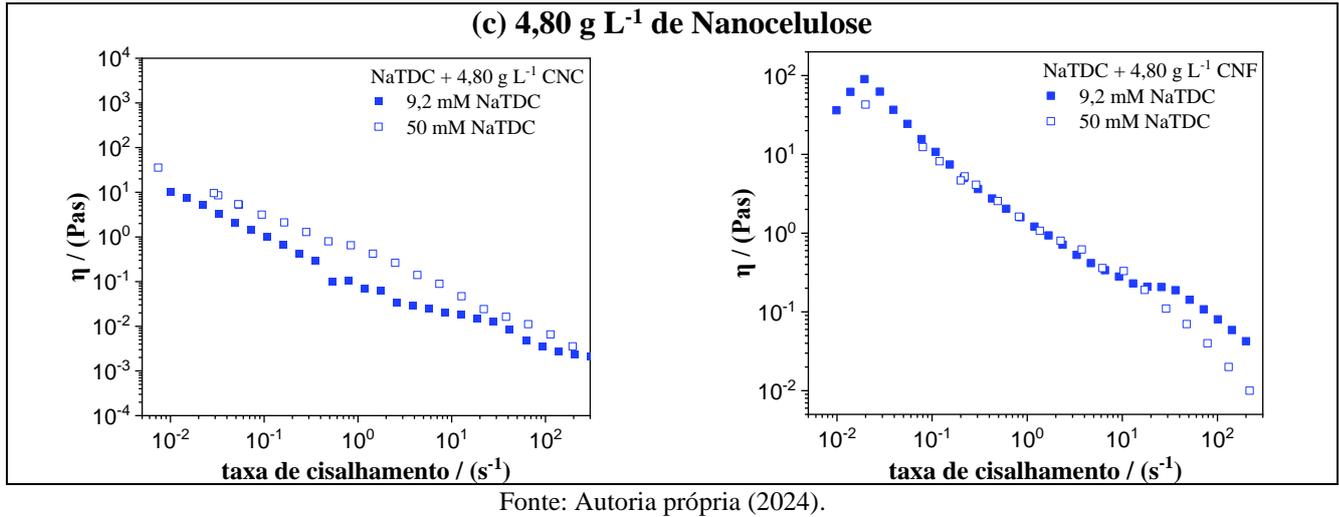
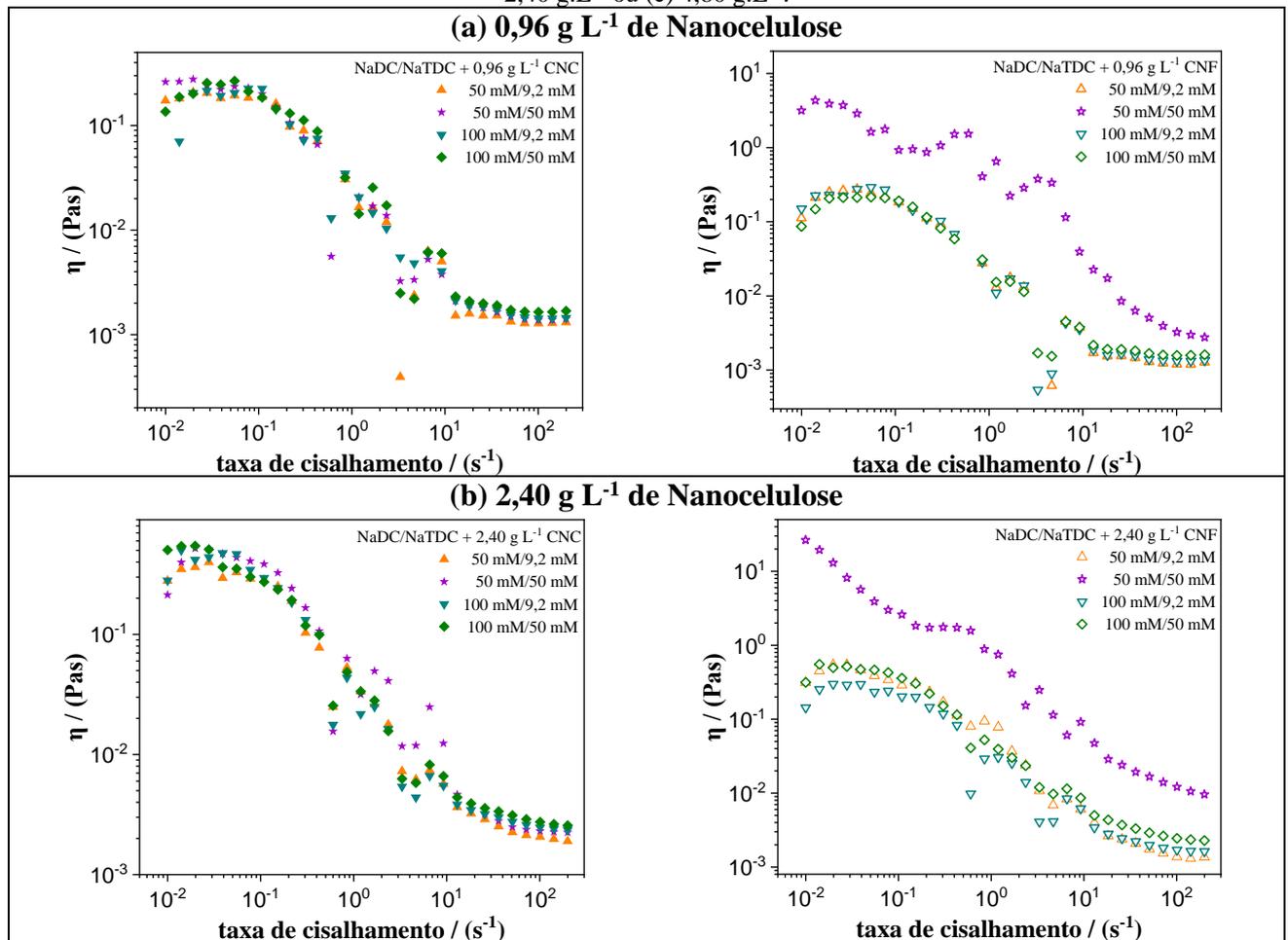


Figura 5C - Curvas de fluxo das amostras de NaDC/NaTDC/nanocelulose acrescidas de CNC ou CNF a (a) 0,96 g.L⁻¹, (b) 2,40 g.L⁻¹ ou (c) 4,80 g.L⁻¹.



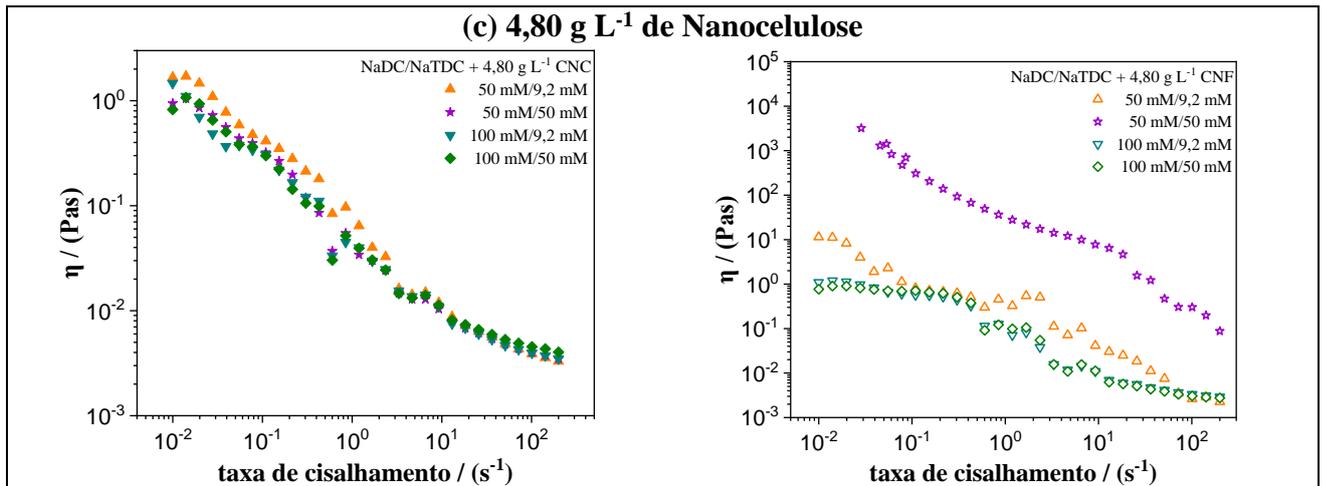
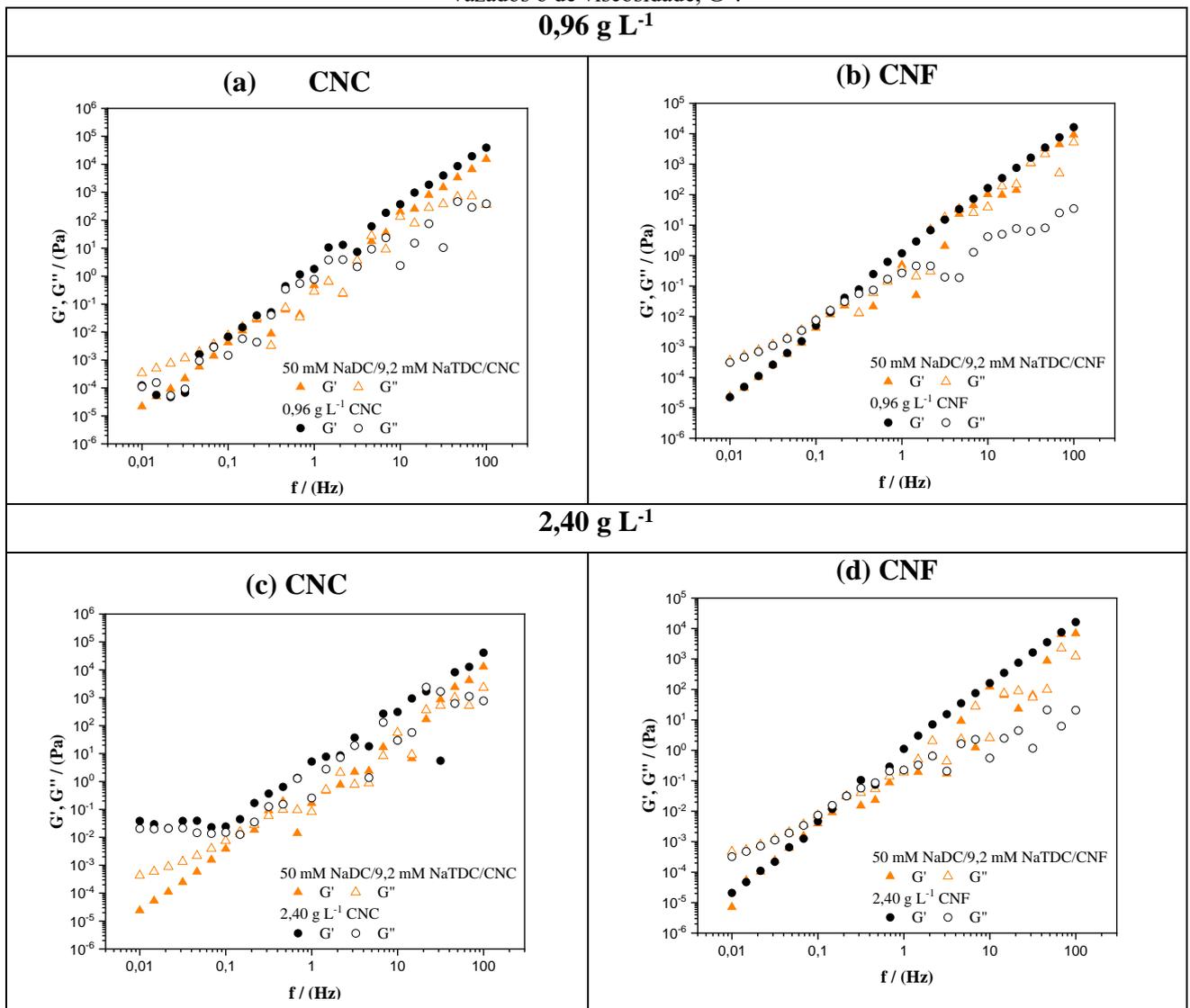
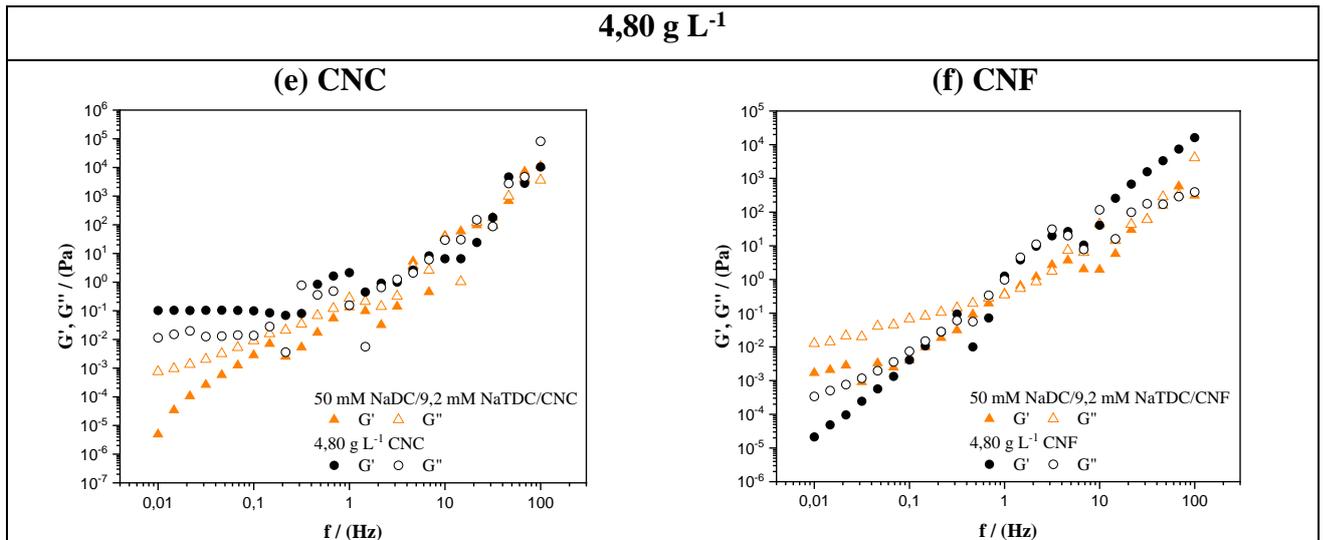


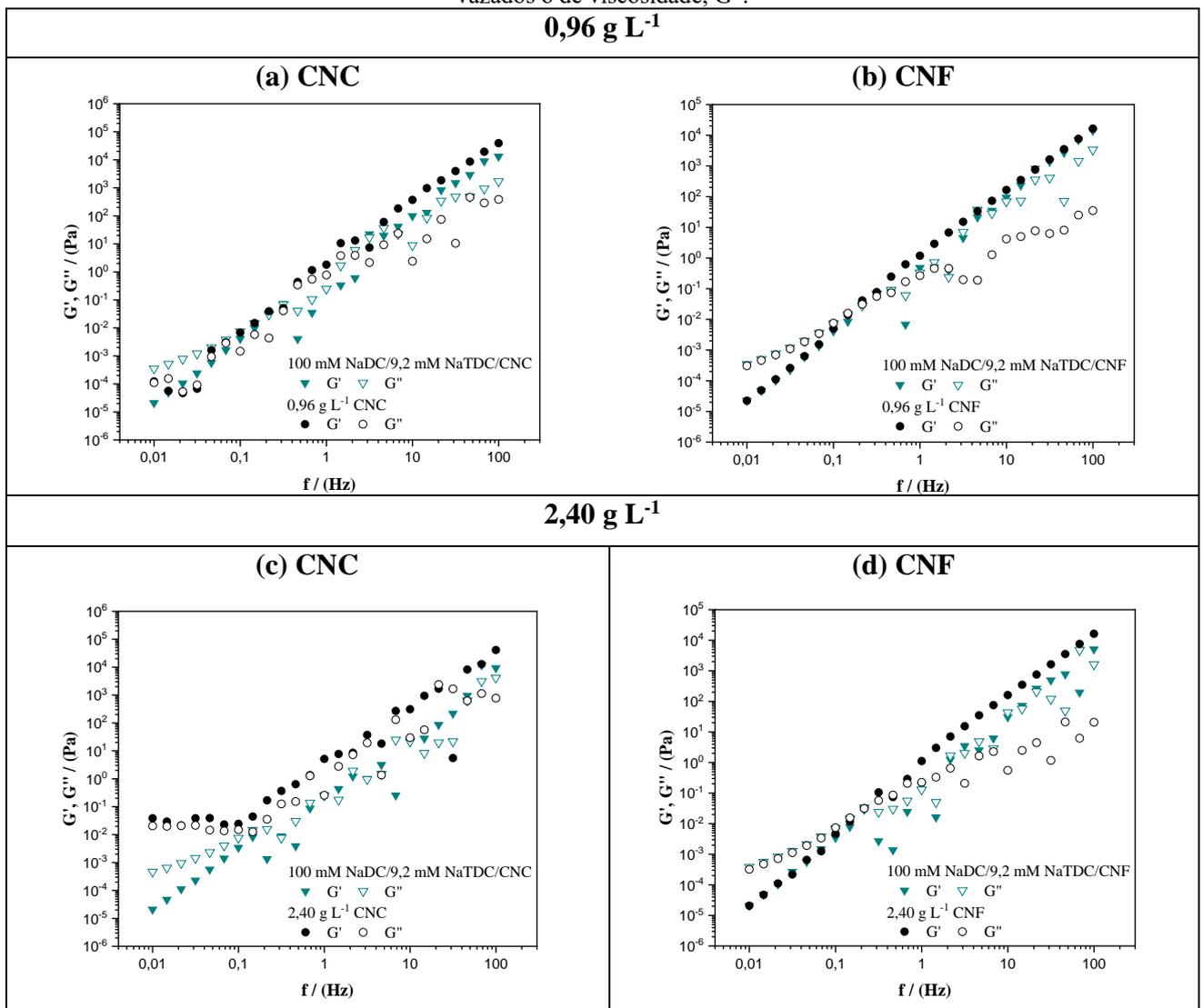
Figura 6C - Ensaio dinâmico das dispersões de 50 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC/nanocelulose (▲) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (●). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.

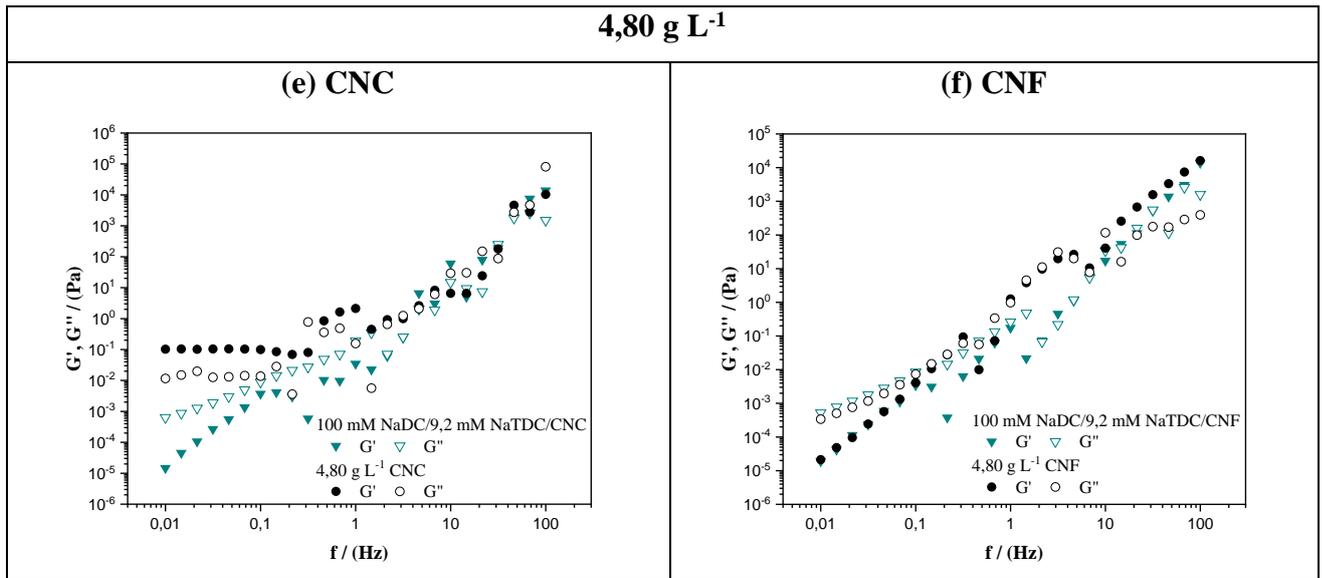




Fonte: Autoria própria (2024).

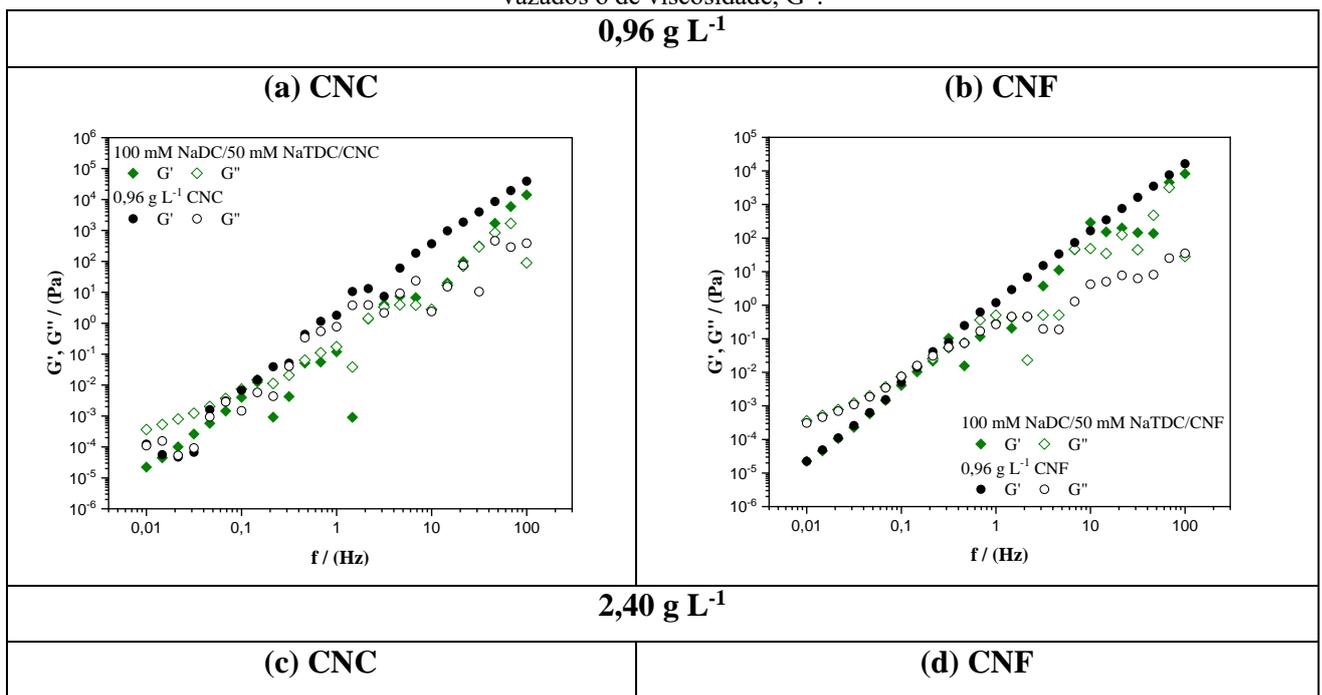
Figura 7C - Ensaio dinâmico das dispersões de 100 mM NaDC/ 9,2 mM NaTDC/nanocelulose (▼) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (●). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.

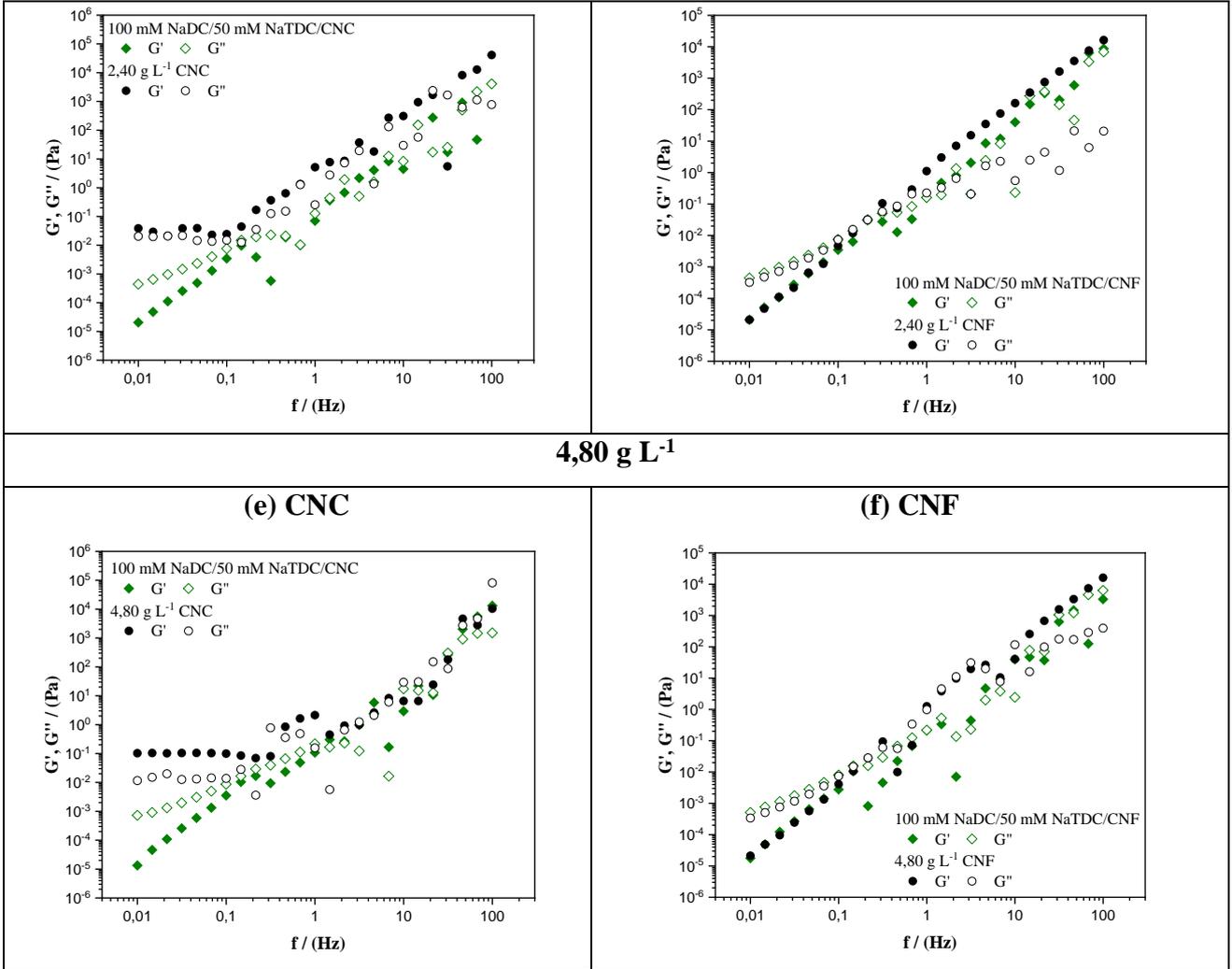




Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 8C - Ensaio dinâmico das dispersões de 100 mM NaDC/ 50 mM NaTDC/nanocelulose (♦) contendo CNC ou CNF a 0,96 g L⁻¹, 2,40 g L⁻¹ ou 4,80 g L⁻¹ (●). Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G', e os vazados o de viscosidade, G''.





Fonte: Autoria própria (2024).