

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

GIOVANA CRISTINA ZAMBUZI

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS AUTO-ORGANIZADOS FORMADOS POR SAIS
DE BILE E LECITINA: EFEITO DA ADIÇÃO DE SOLUTOS POLARES**

SOROCABA - SP

2024

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

GIOVANA CRISTINA ZAMBUZI

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS AUTO-ORGANIZADOS FORMADOS POR SAIS
DE BILE E LECITINA: EFEITO DA ADIÇÃO DE SOLUTOS POLARES**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência
dos Materiais (PPGCM) – Universidade
Federal de São Carlos, Campus Sorocaba
– para obtenção do título de Mestre em
Ciência dos Materiais Orientação: Prof.^a
Dr.^a Kelly Roberta Francisco Muruci de
Paula

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

SOROCABA - SP

2024

Zambuzi, Giovana Cristina

Obtenção de sistemas auto-organizados formados por sais de bile e lecitina: efeito da adição de solutos polares / Giovana Cristina Zambuzi -- 2024.
98f.

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

1. Sais de bile. 2. Lecitina. 3. Auto-agregados. I.
Zambuzi, Giovana Cristina. 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 da candidata Giovana Cristina Zambuzi, realizada em 21/03/2024.

Comissão Julgadora:

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

Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz (UFSCar)

Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (UNICAMP)

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

Dedico ao meus pais, Patrícia e Cláudio,
ao meu noivo, Leonardo, e a minha
orientadora, Kelly, pelo apoio
incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Patrícia e Cláudio, por todo o carinho, incentivo em toda a minha vida. Obrigada por serem meu alicerce e por serem minha fonte de força.

Agradeço ao meu noivo, Leonardo, pela paciência, companheirismo, incentivo e amor ao longo desta jornada. Muito obrigada por estar do meu lado na alegria e na tristeza, por seu meu apoio e meu refúgio.

Agradeço a Kelly por ser mais do que uma orientadora, por me incentivar a ser sempre além, por me mostrar as maravilhas e as dificuldades da vida acadêmica, por todas as conversas no trajeto Limeira – Araras e por me apoiar nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, Felipe, Nayara e Vilma, por todo o companheirismo, risadas e apoio. Vocês foram os melhores presentes que a universidade me deu. Obrigada por crescerem comigo.

Aos meus colegas do Laboratório de Estruturas Supramoleculares e Superfícies, Brenda, Davi, Júlia e Vinicius, por todas as risadas, congressos, análises e conhecimentos compartilhados. Vocês são a melhor equipe!

Aos amores da minha vida, Aslan, Órion, Romeu e Princesa, por me darem o amor mais puro que existe.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM) e a todos os professores da Universidade Federal de São Carlos, por me darem base para o desenvolvimento do projeto.

Agradeço a direção do Centro de Ciências Agrárias por todo auxílio financeiro e estrutural que tornaram possível o desenvolvimento do projeto.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Processo 88887.713913/2022-00) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

Agradeço aos professores Dr. Edvaldo Sabadini e Dr. Watson Loh, da Universidade Estadual de Campinas, pelo empréstimo do reômetro que foi fundamental para a realização da pesquisa.

Quando você tem essa alegria, você faz os experimentos certos. Você deixa que o material lhe diga aonde ir, e ele lhe diz, a cada passo, qual deve ser o próximo –
Barbara McClintock

RESUMO

A compreensão das propriedades físico-químicas na formação de agregados permite que sejam possíveis modificá-los e ajustá-los para aplicações de interesse. Sistemas auto-agregados podem ser obtidos a partir da adição surfactantes acima da concentração micelas crítica em solventes polares e apolares. A lecitina é uma mistura de fosfolípidios que consiste em duas caudas e uma cabeça carregada positiva e negativamente, tendo uma ampla aplicação nas indústrias farmacêutica e cosmética. Os sais de bile são biosurfactantes formados por uma face hidrofílica e outra face hidrofóbica, sendo empregados em tecnologias alimentícias e farmacêuticas. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo verificar a influência de pequenas quantidades dos solutos polimérico e monomérico polietilenoglicol (PEG) (400 g.mol^{-1}) e o propilenoglicol (PG), respectivamente, na formação de agregados de sal de bile e lecitina em meio orgânico (cicloexano). Neste caso foram utilizados três sais de bile diferentes, a saber, taurodeoxicolato de sódio (NaTDC), deoxicolato de sódio (NaDC) e colato de sódio (NaC) e em três proporções diferentes (0,2; 0,4 e 0,8 Sal de bile/Lecitina). Os sistemas autoagregados foram estudados utilizando espalhamento de luz dinâmico (DLS), reologia e espalhamento de raios-X em baixo ângulo (SAXS). As medidas mostraram que a adição de PEG e PG promoveu a formação de agregados cilíndricos (micelas gigantes) para a maioria dos sistemas formados por NaC/Lecitina e NaDC/Lecitina, sendo o sistema 0,8 NaDC/Lecitina com PEG ou PG o mais viscoelástico, com valores de módulo no platô, G_0 , iguais a $2,8 \times 10^4$ e $3,6 \times 10^4$ Pa na presença do PEG e PG, respectivamente. Os resultados mostraram a obtenção de micelas com altos valores de tempo de relaxação (τ_R) iguais a 100 e 102 s para 0,2 NaTDC/Lecitina e 0,2 NaTDC/Lecitina/PG, respectivamente. Ademais, o comprimento de persistência das micelas, l_p , estava na faixa de 17,1 a 20,3 nm, e os agregados obtidos na presença de PEG se apresentaram menos flexíveis. Ademais, as curvas de SAXS mostraram que a maioria dos sistemas apresentaram a formação de micelas gigantes e lamelas na presença dos solutos. Estes resultados mostraram que as ligações de hidrogênio estabelecidas entre os grupos hidroxilas dos solutos e os grupos polares dos surfactantes são responsáveis pela formação de micelas gigantes mais longas e/ou com maior tempo de relaxação. Assim, os sistemas formados podem ser utilizados como plataformas de encapsulação e liberação de fármacos para diversas aplicações.

Palavras-Chave: lecitina, sal de bile, polietilenoglicol, propilenoglicol, reologia, agregados.

ABSTRACT

Understanding the physicochemical properties of obtaining aggregates provides insights into how to modify and adjust them for specific applications of interest. Self-aggregated systems can be obtained by adding surfactants above the critical micellar concentration in polar and nonpolar solvents. Lecithin is a mixture of phospholipids consisting of two tails and with a positively and negatively charged head, having a wide application in the pharmaceutical and cosmetic industries. Bile salts are biosurfactants formed by a hydrophilic and a hydrophobic side, being used in food and pharmaceutical technologies. In this context, this work aimed to verify the influence of small amounts of the polymeric and monomeric solutes polyethylene glycol (PEG) (400 g.mol⁻¹) and propylene glycol (PG), respectively, on the formation of bile salt and lecithin aggregates. in organic medium (cyclohexane). In this case, three different bile salts were used, namely sodium taurodeoxycholate (NaTDC), sodium deoxycholate (NaDC) and sodium cholate (NaC) and in three different proportions (0.2; 0.4 and 0.8 Bile salt/Lecithin). Self-aggregated systems were studied by using dynamic light scattering (DLS), rheology and small-angle X-ray scattering (SAXS). The measurements showed that the addition of PEG and PG promoted the formation of cylindrical aggregates (giant micelles) for most systems formed by NaC/Lecithin and NaDC/Lecithin, with the 0.8 NaDC/Lecithin system with PEG or PG being the most viscoelastic, with plateau modulus values, G_0 , equal to 2.8×10^4 e 3.6×10^4 Pa in the presence of PEG and PG, respectively. The results showed the obtaining of micelles with high relaxation time values (τ_R) equal to 100 and 102 s for 0.2 NaTDC/Lecithin and 0.2 NaTDC/Lecithin/PG, respectively. Furthermore, the persistence lengths of the micelles, l_p , were in the range of 17,1 to 20,3 nm, and the aggregates obtained in the presence of PEG were less flexible. Furthermore, the SAXS curves showed that most systems presented the formation of giant micelles and lamellae in the presence of solutes. These results showed that the hydrogen bonds established between the hydroxyl groups of the solutes and the polar groups of the surfactants were responsible for the formation of longer giant micelles and/or longer relaxation times. Thus, the systems formed can be used as drug encapsulation and release platforms for various applications.

Keywords: lecithin, bile salt, polyethylene glycol, propylene glycol, rheology, aggregates.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da estrutura de um surfactante.	17
Figura 2: Exemplos de estruturas que podem ser formadas em soluções de surfactantes acima da CMC. A cor vermelha representa a cabeça polar e a cor amarela representa a cauda apolar da estrutura de um surfactante.....	19
Figura 3: Estrutura química da molécula de lecitina	20
Figura 4: Estrutura química do Taurodeoxicolato de sódio (NaTDC)	24
Figura 5: Estrutura química do Deoxicolato de sódio (NaDC)	24
Figura 6: Estrutura química do Colato de sódio (NaC).....	24
Figura 7: Representação esquemática da formação de micelas gigantes inversas entre lecitina e sais de bile.....	25
Figura 8: Estrutura química do polietilenoglicol (PEG).....	29
Figura 9: Estrutura química do propilenoglicol (PG).....	29
Figura 10: Ensaio dinâmico para o sistema 0,2 NaC/Lecitina – PG com indicação dos parâmetros G_0 e τ_R	32
Figura 11: Exemplos de curvas e respectivas morfologias dos agregados obtidas através de SAXS.	35
Figura 12: Imagem ilustrando o processo de obtenção dos sistemas de lecitina e sais de bile.	38
Figura 13: (a) Equipamento Xeuss 2.0; (b) capilares utilizados para as amostras	38
Figura 14: (a) Equipamento Haake RheoStress 1; (b) base P61; (c) rotor PP35 Ti; (d) base Z20 Din Ti e (e) rotor Z20 Din Ti	39
Figura 15: (a) Equipamento Zetasizer; (b) cubeta de quartzo utilizada nas análises	41
Figura 16: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaC com e sem adição de PEG e PG.	42
Figura 17: Curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaC/Lecitina sendo (-) sem solutos; (-) PEG e (-) PG.....	43
Figura 18: Curva de fluxo do sistema 0,8 NaC/Lecitina.	47
Figura 19: Ensaio dinâmico dos sistemas NaC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G''	48
Figura 20: Distribuição de tamanho de partículas para o sistema 0,4 NaC/Lecitina com adição de PEG.	51
Figura 21: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.	53
Figura 22: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaDC com e sem adição de PEG e PG	56
Figura 23: Curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaDC/Lecitina sendo (-) sem solutos; (-) PEG e (-) PG.	58

Figura 24: Curva de fluxo obtida para o sistema 0,4 NaDC/Lecitina – PG.	60
Figura 25: Ensaio dinâmico dos sistemas NaDC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G''	61
Figura 26: Tamanho de partículas do sistema 0,8 NaDC/Lecitina.....	64
Figura 27: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaDC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.	66
Figura 28: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaTDC com e sem adição de PEG e PG.	69
Figura 29: Curva de fluxo obtida para o sistema 0,2 NaTDC/Lecitina – PG.....	71
Figura 30: Ensaio dinâmico dos sistemas NaTDC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G''	72
Figura 31: Distribuição de tamanho de partículas para o sistema	75
Figura 32: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaTDC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.....	77
Figura 33: Valores de (a) $G_{0,1}/G_{0,0}$ e (b) $\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$ dos sistemas sal de bile/ Lecitina com adição de PEG ou PG: (■) NaC; (●) NaDC e (▲) NaTDC. Os sistemas contendo PEG ou PG estão representados pelos símbolos abertos e símbolos fechados, respectivamente. 79	79
Figura 34: Comprimentos de persistência dos sistemas de (a) NaC/Lecitina e (b) NaDC/Lecitina em função das proporções (0,2, 0,4 e 0,8) com e sem a adição dos solutos PEG e PG.....	81
Figura 35: Ensaio dinâmico para as soluções estoque de (♦) Lecitina 200 mM; (■) NaTDC 100 mM; (●) NaDC 100 mM e (▲) NaC 100 mM. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G''	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de inclinação ($q-\alpha$) e possíveis estruturas formadas para os sistemas NaC/Lecitina.....	44
Tabela 2: Valores de q para ombros e picos encontrados e seus respectivos comprimentos para os sistemas NaC/Lecitina.....	45
Tabela 3: Picos de difração encontrados para os sistemas 0,8 NaC/Lecitina e picos esperados para fases lamelar e hexagonal.	46
Tabela 4: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.	47
Tabela 5: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.....	49
Tabela 6: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaC/Lecitina com e sem solutos.	50
Tabela 7: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.....	51
Tabela 8: Valores de inclinação ($q-\alpha$) e possíveis estruturas formadas para os sistemas NaDC/Lecitina.....	59
Tabela 9: Valores de q para ombros e picos encontrados e seus respectivos comprimentos para os sistemas NaDC/Lecitina.....	59
Tabela 10: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.	61
Tabela 11: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaDC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.....	63
Tabela 12: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaDC/Lecitina com e sem solutos.	63
Tabela 13: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.....	65
Tabela 14: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.....	71
Tabela 15: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaTDC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.....	73
Tabela 16: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaTDC/Lecitina com e sem solutos.	74
Tabela 17: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.....	75
Tabela 18: Morfologias dos agregados obtidas por medidas de SAXS para os sistemas contendo NaC e NaDC e morfologia proposta para os sistemas contendo NaTDC à partir de medidas reológicas. (*Morfologias propostas somente a partir dos dados reológicos).	80

Tabela 19: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para as soluções estoques de Lecitina 200 mM, NaTDC 100 mM, NaDC 100 mM e NaC 100 mM..... 97

LISTA DE SIGLAS

CMC – Concentração Micelar Crítica

DLS - Espalhamento dinâmico de luz

NaC – Colato de sódio

NaDC – Deoxicolato de sódio

NaTDC – Taurodeoxicolato de sódio

PEG – Polietilenoglicol

PG – Propilenoglicol

SAXS - Espalhamento de raios-X a baixo ângulo

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius

$^{\circ}$ – Grau

τ – Tensão

τ_R – Tempo de relaxação

$\dot{\gamma}$ - Taxa de cisalhamento

η_0 – Viscosidade no platô

η_{ap} – Viscosidade aparente

cm – Centímetros

g – Grama

G' – Módulo de armazenamento

G'' – Módulo de perda

G_0 – Módulo de Platô

Hz – Hertz

keV – Quiloelétron-volt

L – Litro

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mM – Concentração milimolar

nm – Nanômetro

Pa – Pascal

Pa.s – Pascal segundo

q – Vetor de espalhamento

rpm – Rotação por minuto

s – Segundo

SUMÁRIO

Capítulo 1: Introdução	17
1.1. Sistemas auto-agregados	18
1.2. Lecitina	20
1.3. Sal de bile	22
1.4. Agregados formados por Sal de bile/Lecitina	25
1.5. Reologia	30
1.6. Tamanho e forma de agregados	33
1.6.1. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	33
1.6.2. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)	34
1.7. Objetivos e Justificativa	35
Capítulo 2: Metodologia	37
2.1. Material	37
2.2. Preparo dos sistemas de sal de bile/Lecitina	37
2.3. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)	38
2.4. Reologia	39
2.5. Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)	40
Capítulo 3: Resultados e Discussão	42
3.1. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaC/Lecitina	42
3.2. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaDC/Lecitina	56
3.3. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaTDC/Lecitina	69
3.4. Comparação entre os diferentes sais de bile na formação dos agregados sal de bile/lecitina com e sem adição de PEG ou PG	79
Capítulo 4: Conclusão	84
Referências Bibliográficas	85
APÊNDICE A – Análises Reológicas das soluções estoques	97
Modo rotacional: Curvas de fluxo	97
Modo oscilatório: varredura de frequências	97

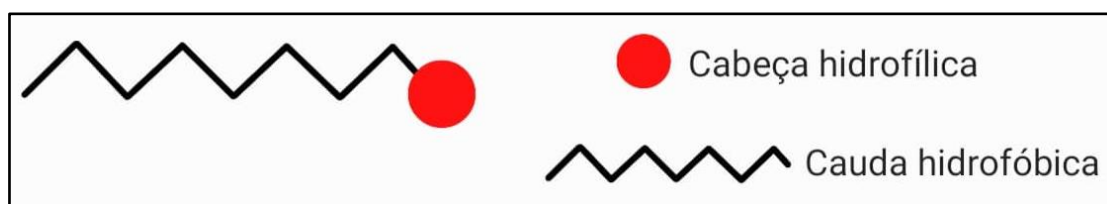
Capítulo 1: Introdução

A forma com que moléculas pequenas se agregam atraem o interesse de pesquisadores há décadas, devido às suas características físico-químicas e a possibilidade de alterar os agregados obtidos através de pequenas mudanças na composição dos sistemas. É por meio destas alterações que se torna possível adequar os sistemas para cada fim desejado. Dentre as moléculas estudadas, cabe destacar o uso de surfactantes (Pilipovic et al, 2022). Existe interesse particular no uso de surfactantes de origem natural, tal qual a lecitina e sais de bile, devido a sua biocompatibilidade e baixo impacto ambiental.

Os primeiros usos de surfactantes naturais como produtos de limpeza datam em torno de 600 a.C., estes eram empregados como sabões de ácidos graxos. Foram encontrados o uso de surfactantes como sabões nas sociedades Fenícia, Romana e Celta. Para a confecção dos sabões eram utilizados gordura animal, cinzas de plantas ricas em carbonato de potássio e água. Conforme a mistura era fervida, ocorria o processo de saponificação (Myers, 2005).

Por definição, os surfactantes (também chamados de tensoativos) são moléculas anfifílicas, ou seja, são compostos por uma parte apolar hidrofóbica, chamada de cauda, e uma parte polar hidrofílica, chamada de cabeça (Atkins & Paula, 2017). Um esquema genérico da estrutura de um surfactante pode ser observado na Figura 1.

Figura 1: Representação esquemática da estrutura de um surfactante.



Fonte: autoria própria

Diversos estudos foram realizados envolvendo a formação de agregados entre sais de bile e lecitina tanto em meio aquoso, com a formação de micelas gigantes e vesículas, quanto em meio orgânico, com a formação de micelas reversas e micelas gigantes reversas (do inglês “wormlike micelles”). Entre estes estudos há o uso destes agregados para a solubilização e encapsulamento de fármacos e outras moléculas, como colesterol

(Jain et al, 1992), nitrazepam (Castro et al, 2001) e luteolina (Abbas et al, 2022), bem como o uso na digestão de lipídeos (Makkaoui et al, 2021).

Mesmo sendo alvo de vários estudos, há a necessidade de maiores investigações sobre a formação destes agregados em meio orgânico. Nos trabalhos utilizados como base para o desenvolvimento da metodologia de elaboração dos sistemas, foi observado que a forma e o tamanho dos agregados formados são dependentes do solvente utilizado, assim como da presença de solutos (Tung, Huang & Raghavan, 2006; Cautela et al, 2017). Deste modo, o presente trabalho visa contribuir para o aumento dos estudos utilizando solvente orgânico para a formação de sistemas auto-agregados com propriedades reológicas interessantes e como plataformas para liberação de fármacos.

1.1. Sistemas auto-agregados

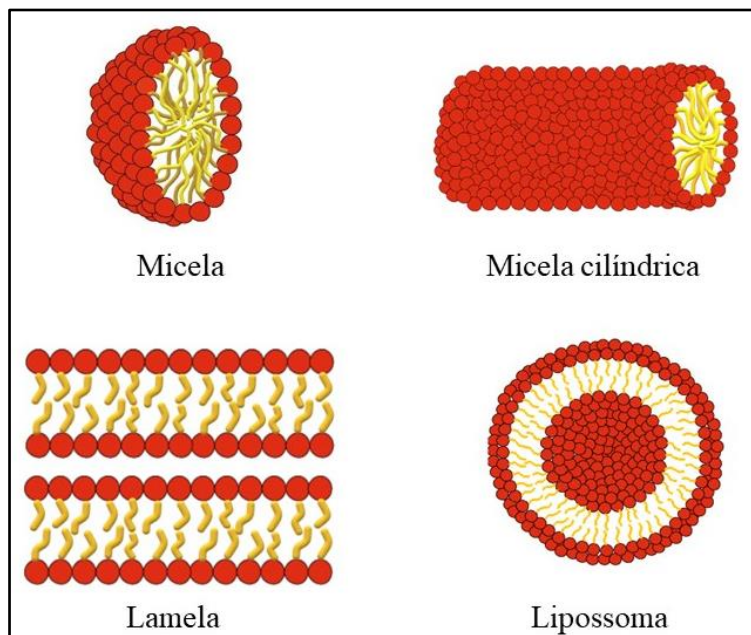
Os sistemas auto-agregados são formados a partir de pequenas moléculas que se organizam reversivelmente em uma solução (aquosa ou não-aquosa) de forma espontânea por meio de interações intermoleculares (Goodwin, 2004). Estes agregados podem gerar mudanças nas propriedades reológicas, térmicas, óticas e elétricas nas soluções (Manna et al, 2013; Zhou et al, 2013; Yu et al, 2021). De modo geral, estes agregados são formados a partir de moléculas anfifílicas, tais como surfactantes.

Em baixas concentrações estas moléculas tendem a ocupar as interfaces do sistema, ocasionando a diminuição da energia livre de Gibbs da superfície e da tensão superficial (Goodwin, 2004). Sua orientação na interface dependerá do meio em que se encontra: se o meio for aquoso a parte hidrofóbica ficará orientada para a interface enquanto a parte hidrofílica ficará orientada para o meio (Singh & Chauhan, 2020a).

Ao aumentar a concentração das moléculas no meio, para minimizar as forças de repulsão entre as cadeias do surfactante, bem como aumentar a entropia do sistema, estas passarão a se agregar espontaneamente, sendo a concentração mínima para a formação destes agregados é chamada de Concentração Micelar Crítica (CMC) (Atkins & Paula, 2017; Turchi, Karcz & Andersson, 2022). Geralmente a combinação de diferentes surfactantes permite o surgimento destes agregados em concentrações inferiores a CMC de cada um separadamente (Shim, Marques & Cates, 1991; Attia et al, 2011). Diversas estruturas podem ser formadas, tais como lamelas, hexagonais, micelas esféricas, micelas

cilíndricas, lipossomas, entre outros (Alam et al, 2010; Percebom et al, 2018). A Figura 2 apresenta exemplos das estruturas que podem ser formadas.

Figura 2: Exemplos de estruturas que podem ser formadas em soluções de surfactantes acima da CMC. A cor vermelha representa a cabeça polar e a cor amarela representa a cauda apolar da estrutura de um surfactante.



Fonte: Autoria própria

Cada tipo de agregado formado apresentará características diferentes, podendo assim ter diferentes tipos de aplicações. Fatores como tipo de surfactante, presença de eletrólitos, pH, temperatura e outros solutos influenciam o tipo de agregado que poderá ser formado (Thongngam & McClements, 2005; Lianos, Lang & Zana, 1983; Chauhan et al, 2014; Acharya, Bhattacharya & Moulik, 1997).

Dentre estas estruturas, cabe destacar que as mesmas podem ter a sua morfologia predita de acordo com o Parâmetro de Empacotamento Crítico (P) conforme descrito na Equação 1 (Israelachvili, Mitchell & Ninham, 1976).

$$P = \frac{v}{a_0 l_c} \quad \text{Equação 1}$$

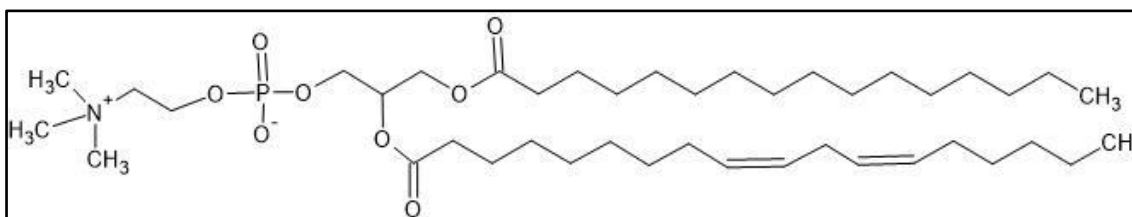
onde v é o volume da cauda hidrofóbica, a_0 é a área da cabeça hidrofílica na interface e l_c é o comprimento da cauda hidrofóbica.

A partir dos valores obtidos para P é possível classificar os tipos e tamanhos de estruturas. Por exemplo, quando P é menor do que 1/3, são formadas micelas esféricas, se P é maior do que 1 são formadas micelas reversas (Feng, Chu & Dreiss, 2015; Creatto et al, 2022). Várias aplicações podem ser encontradas para tais sistemas, tais como na indústria farmacêutica para melhorar a solubilidade de fármacos (Hwang, Ramsey & Kabanov, 2020), na indústria de cosméticos na formulação de produtos para a pele (Kozaka et al, 2020) e na indústria alimentícia para enriquecimento alimentar (Bu et al, 2021).

1.2. Lecitina

A lecitina (Figura 3) é um surfactante zwitterionico natural, sendo constituída por uma mistura de fosfolipídios (entre 50% a 70%), tais como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, entre outros, sua estrutura se diferencia dos demais surfactantes por possuir duas caudas. Foi descoberta no século XIX por Theodore Gobley ao encontrar uma membrana na gema de ovo composta por fosfolipídios, o nome lecitina deriva da palavra grega “lekithos”, que significa “gema de ovo” (Zárate et al, 2019; Zeisel, 2012). Os fosfolipídios são compostos por uma região polar, onde se localiza o grupo fosfato (mono ou diéster), e uma região apolar composta por ácidos graxos. São responsáveis pela composição das membranas celulares tanto em animais quanto em plantas e possuem papel fundamental na sinalização celular (Nasab et al, 2019).

Figura 3: Estrutura química da molécula de lecitina



Fonte: Autoria própria

Pode ser obtida tanto de fontes vegetais quanto animais. Nos vegetais, é encontrada em maior quantidade nos grãos de soja, mas também é encontrada em sementes de girassol, colza. Estudos recentes apontam sua extração em fontes como semente de camelina, arroz, algodão e milho (Bot; Cossuta; O’Mahony, 2021). Embora

os grãos de soja sejam a maior fonte vegetal de lecitina, outras fontes se tornam vantajosas por serem livres de material geneticamente modificado. Dentre as fontes de origem animal da lecitina pode-se citar a gema de ovo, peixes, lulas e leite (Alhadj et al, 2020). Se destaca com a maior quantidade de lecitina, comparada inclusive com as fontes vegetais, a gema de ovo, contudo a mais utilizada é a proveniente da soja devido ao seu custo-benefício (Zhao et al, 2023; van Nieuwenhuyzen & Tomás, 2008).

O processo de obtenção da lecitina consiste basicamente de três etapas: degomagem, secagem e resfriamento. O processo de degomagem consiste no refino do óleo vegetal para remoção de impurezas (Xie & Dunford, 2019). Para a lecitina, utiliza-se o óleo de soja seguido do processo de refino, que pode ser químico, físico ou enzimático. O tipo mais utilizado é a degomagem química, esta consiste na adição de uma base forte (geralmente NaOH), a mistura passa por centrifugação para a retirada da fase aquosa, que posteriormente passará pelas etapas de oxigenação e desodorização (Méndez; Garay & Ramos, 2022).

A degomagem física constitui-se na adição de água para hidratação dos fosfolipídios, seguido de aquecimento e adição de ácido cítrico e posterior resfriamento e adição de NaOH. Por fim, a degomagem enzimática possui praticamente as mesmas etapas que a degomagem física, com a distinção do acréscimo de enzimas após a adição de NaOH, a mistura passa ainda por agitação, aquecimento e centrifugação (Xie & Dunford, 2017).

A composição e proporção química da lecitina pode variar de acordo com sua fonte de obtenção e o método de degomagem utilizado. Para a lecitina de soja aproximadamente metade de sua composição é formada por lipídeos, sendo eles fosfatidilcolina (15%), fosfatidiletanolamina (11%), fosfatidilinositol (10%) e fosfatídeos (4%) (van Nieuwenhuyzen & Tomás, 2008). Os demais componentes são triglicerídeos (34%) e ácidos graxos, dentre eles ácido linoleico, oleico e palmítico. Em menores concentrações estão os glicolipídios, esteroides, proteínas e carotenoides (Nguyen et al, 2014; Bot, Cossuta & O'Mahony, 2021).

Por ser composta majoritariamente por fosfolipídios, a lecitina inicia a formação de agregados em baixas concentrações. Seu processo de auto-organização ocorre por meio de interações não covalentes, tais como ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (Zárate et al, 2019). Em soluções aquosas a lecitina pode formar micelas, lipossomas, lamelas e fase hexagonal (Li et al, 2015). Em fase orgânica ou óleos, serão

formadas majoritariamente micelas reversas cilíndricas ou esféricas (Hashizaki et al, 2012).

A variedade de estruturas formadas, bem como suas excelentes propriedades permitem que a lecitina possua um amplo uso, podendo ser utilizada na indústria alimentícia como emulsificante e na indústria farmacêutica e cosmética para encapsulação de substâncias (Amézqueta et al, 2020).

Na indústria de cosméticos, a lecitina é vastamente empregada em produtos para pele, visto que devido a sua estrutura é possível controlar a sua permeação nos tecidos (Méndez, Garay & Ramos, 2022). Dentre os usos para a pele há o desenvolvimento de lipossomas para encapsulação de vitamina E (Qu et al, 2018) e Vitamina C (Einien et al, 2020). Ademais, é possível encontrar a lecitina em desodorantes, perfumes e spray para cabelo (Johnson et al, 2020). Na indústria farmacêutica, agregados formados por lecitina são utilizados para a liberação de fármacos, tal qual o desenvolvimento de lipossomas para liberação de antimaláricos (Rajendran et al, 2016), antitumorais (Chan et al, 2009) e Metronidazol (Singh et al, 2016). Na indústria alimentícia cabe destacar seu uso na produção de chocolates, sua função é diminuir a viscosidade do chocolate. As interações ocorrem por meio da parte hidrofílica da lecitina com a sacarose do chocolate e a parte hidrofóbica com a manteiga de cacau (Caparosa, Hartel, 2020; Saputro et al, 2019). Outra área que tem se destacado para o uso da lecitina é na estabilidade de emulsões água-em-óleo para aplicação na indústria alimentícia, para tal é utilizada a lecitina associada a outros componentes, tais como sais inorgânicos, polissacarídeos, proteínas e partículas de zeína (Wang et al, 2021)

1.3. Sal de bile

Os sais de bile, também conhecidos como sais biliares, são biosurfactantes anfifílicos e possuem estrutura quirál. Sua estrutura se diferencia dos demais surfactantes, ao invés de possuir uma cabeça polar e uma cauda apolar, os sais de bile possuem uma face hidrofílica e outra face hidrofóbica, deste modo apresentam uma polaridade planar (Singh & Chauhan, 2020a). Os sais de bile são compostos por um esqueleto rígido de esteroide com grupos carboxilas ou hidroxilas que compõe a face hidrofílica enquanto a face hidrofóbica possui grupos metil (Xu et al, 2022).

Os sais de bile são produzidos nos hepatócitos, sendo o principal produto do metabolismo do colesterol no fígado. São armazenados na vesícula biliar e secretados no

intestino delgado por meio do ducto biliar (Gándola et al, 2020). Sua principal função está relacionada com a solubilização e absorção de vitaminas lipossolúveis pelo trato intestinal. Devido a sua estrutura, os sais de bile apresentam a capacidade de interagir com receptores, além disso podem atuar como seletor quiral para separação enantiômera de substâncias como peptídeos, aminoácidos e fármacos (Hu et al, 2022).

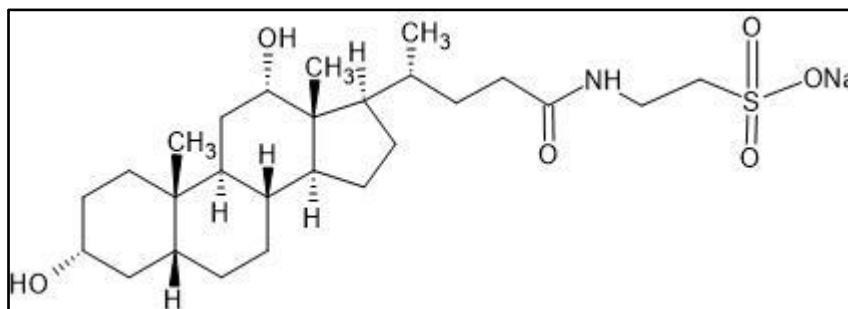
No organismo humano, os ácidos biliares encontrados com mais recorrência são os ácidos cólicos, também chamados de sais colatos. Também são produzidos os deoxicólicos, conhecidos como sais deoxicolatos, e quenodeoxicólicos, também nomeados de quenodeoxicolatos (Singh & Chauhan, 2020b). Os sais de bile derivados de colatos possuem a característica de serem altamente adsorvidos em superfícies hidrofóbicas, ao passo que os derivados de deoxicolatos e quenodeoxicolatos prontamente se desolvem de interfaces e se organizam no interior do meio (Pabois et al, 2019).

A polaridade facial deste surfactante confere a ele uma característica peculiar para a formação de agregados. Os grupos hidroxil permitem a formação de ligações de hidrogênio, proporcionando o surgimento de estruturas rígidas, proveniente das limitações conferidas pelas ligações (Madenci & Egelhaaf, 2010; Dey et al, 2023). Há também interações eletrostáticas entre os agregados formados, de modo que seja possível modificar as estruturas controlando aspectos como pH e força iônica (Suys et al, 2017). Os tipos de agregados que podem ser produzidos dependem da concentração do sal no meio e de sua composição química. Geralmente, os sais de bile formam agregados menores e possuem menores valores de CMC do que os demais surfactantes (Warren et al, 2006; Na et al, 2022). Dentre as estruturas que podem ser formadas pode-se citar micelas em forma de disco, helicoidais, tubos, nanotubos, vesículas e lipossomas (Wang, Fernandes & Marques, 2019; Jover et al, 2022).

Dentre os diversos tipos de sais de bile existentes, foram escolhidos para o desenvolvimento deste projeto os sais Taurodeoxicolato de Sódio (NaTDC) (Figura 4), Deoxicolato de Sódio (NaDC) (Figura 5) e o Colato de Sódio (NaC) (Figura 6).

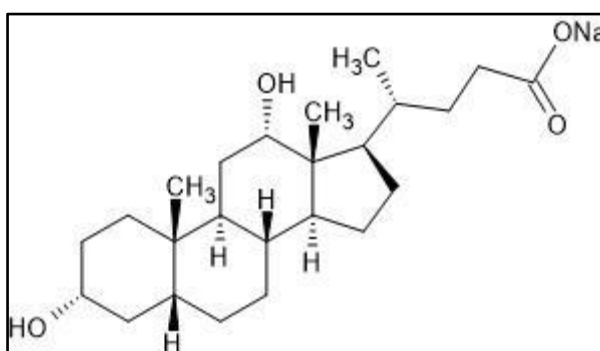
A escolha destes sais foi feita com o objetivo de avaliar de que modo a diferença nas estruturas químicas influenciam a formação dos agregados. O NaTDC e NaDC possuem semelhanças no anel esteroide, se diferenciando pela presença do grupo tauro no NaTDC na cabeça da molécula, por ser um sal de bile conjugado com taurina (Bottari & Festa, 1996). O NaC apresenta três grupos hidroxilas em seu anel esteroide, ao contrário dos demais que possuem dois grupos.

Figura 4: Estrutura química do Taurodeoxicolato de sódio (NaTDC)



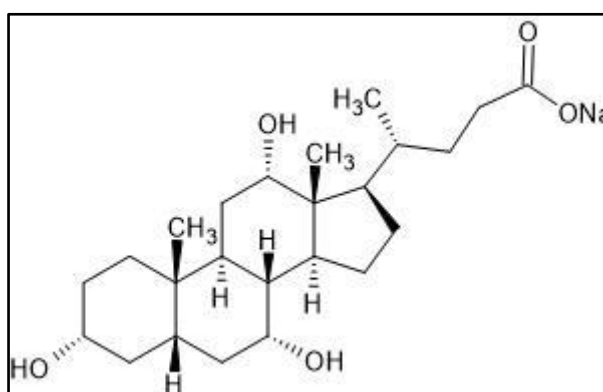
Fonte: Autoria própria

Figura 5: Estrutura química do Deoxicolato de sódio (NaDC)



Fonte: Autoria própria

Figura 6: Estrutura química do Colato de sódio (NaC)



Fonte: Autoria própria

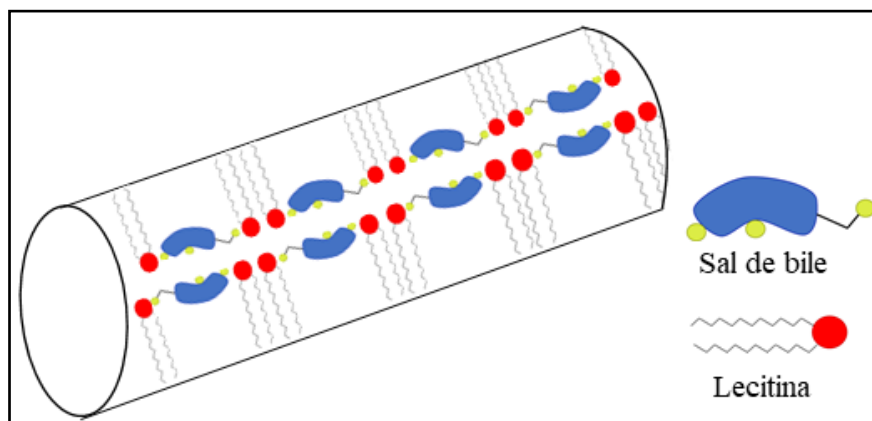
Características como biocompatibilidade, adaptação a elevadas temperaturas e diferentes tipos de autoagregação permitem sua aplicação em diferentes segmentos, tais como emulsificantes, nanomateriais e na indústria farmacêutica (Singh & Chauhan, 2020b; Wang, Fernandes & Marques, 2019). Na indústria farmacêutica seu uso envolve o encapsulamento de fármacos pouco solúveis em água, visando aumentar a sua

permeabilidade ao se integrar a membrana celular (Aleksandar et al, 2021). Estudos mostraram o uso dos sais de bile para encapsulamento de antitumorais para câncer de mama (Tang et al, 2013), antifúngicos (Gangadhar, Adhikari & Srichana, 2014) e vacinas (Gándola et al, 2020).

1.4. Agregados formados por Sal de bile/Lecitina

A lecitina realiza o processo de auto-agregação na presença de sais de bile, sendo formadas diversas estruturas tais como micelas gigantes. A auto-agregação ocorre devido a possíveis formações de interações intermoleculares, dentre elas interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio (Hanio et al, 2021; Cheng, Wang & Tung, 2015; Tung, Huang & Raghavan, 2006). A Figura 7 apresenta um esquema da formação de micelas gigantes inversas constituídas por lecitina e sais de bile num solvente apolar.

Figura 7: Representação esquemática da formação de micelas gigantes inversas entre lecitina e sais de bile.



Fonte: Autoria própria. Adaptado de Tung, Huang & Raghavan (2006).

Há muitos estudos reportados sobre a formação de agregados formados por lecitina e sais de bile em meio aquoso, nos quais diversas estruturas auto-organizadas foram obtidas, a saber, micelas, micelas gigantes e vesículas (Paul & Balaram, 1978; Long, Kaler & Lee, 1994; Luk, Kaler & Lee, 1997; Mouaz et al, 2001; Leng, Egelhaaf & Cates, 2003; Cheng, Wang & Tung, 2015). A partir de medidas de DLS, espalhamento de nêutrons em baixos ângulos (SANS) e Cryo-TEM, o grupo de Schurtenberger determinou os parâmetros estruturais fator de forma, raio de giração, raio hidrodinâmico, segundo coeficiente de virial, flexibilidade e a polidispersidade para sistemas contendo

lecitina/sais de bile em meio aquoso. O grupo de Schurtenberger foi um dos primeiros a estudar esses agregados em meio aquoso a partir da década 90 e a considerar nos cálculos não somente a formação de micelas e vesículas como também a formação de micelas gigantes, a depender das proporções entre lecitina/sal de bile e da natureza do sal de bile (Egelhaaf & Schurtenberger, 1994; Pedersen, Egelhaaf & Schurtenberger, 1995; Egelhaaf & Schurtenberger, 1997; Egelhaaf & Schurtenberger, 1998; Arleth et al, 2003; Madenci et al, 2011).

Muitos trabalhos envolvendo a obtenção de agregados de lecitina e sais de bile em meio aquoso focaram em utilizá-los na solubilização e no encapsulamento de fármacos e moléculas de interesse, por exemplo, colesterol, diclofenaco, nitrazepam, carvedilol e luteolina (Jain et al, 1992; Schwartz et al, 1998; Castro et al, 2001; Zhou et al, 2017; Abbas et al, 2022) e em estudos para compreender sistemas biológicos e como as enzimas atuam (Birru et al, 2014; Neubrand et al, 2015; Okuro et al, 2020c; Okuro et al, 2021; Bose, Bhattacharjee & Goswami, 2022). Apesar de os sistemas com lecitina e sais de bile em meio aquoso serem amplamente estudados, poucos são os estudos envolvendo esses componentes em meio orgânico, indicando que novas formas de obtenção e aplicação desses sistemas ainda precisam ser exploradas.

As micelas inversas, ou seja, os agregados formados em meio orgânico podem ser aplicados em diversas áreas e tecnologias, por exemplo, como meio para reações enzimáticas, redutores de atrito, reservatório para investigar a dinâmica de espécies cromóforas confinadas, mediadores para a síntese de nanomateriais e organogels como modificadores reológicos e na indústria de alimentos (Agrawal et al, 2021; Okuro et al, 2021; Bose, Bhattacharjee & Goswami, 2022; Aramaki et al, 2018; Li et al, 2022; Shabbir et al, 2022; Varma et al, 2022).

Os estudos envolvendo os agregados formados por lecitina em meio orgânico mostraram que a forma e o tamanho dos agregados obtidos são muito dependentes dos co-solutos e dos solventes utilizados, como bem documentado por Cunha e colaboradores (Okuro et al, 2018a; Okuro et al, 2018b; Okuro et al, 2020a; Okuro et al, 2020b. Por exemplo, Lee e colaboradores verificaram a formação de agregados de lecitina em solventes orgânicos em diferentes sistemas: i) formação de géis de lecitina em óleos minerais na presença de cloreto de cálcio devido à formação de micelas gigantes inversas (Lee & Lee, 2018), ii) efeito do comprimento da cadeia dos solventes hexano, octano, decano e dodecano na formação de agregados de lecitina na presença dos sais LiCl, LiBr, LiI, NaCl, NaBr, NaI, KCl, KBr e KI e o efeito dos sais na formação das micelas gigantes

inversas, na força dos géis e separação de fases (Jung et al, 2020); iii) efeito dos álcoois D-sorbitol, DL-treitol, xilitol e glicerol na formação de agregados de lecitina nos solventes hexano, decano e dodecano, nos quais as interações dos álcoois com o grupo PO^4 na lecitina são fundamentais na formação dos agregados, pois aumenta o volume da cabeça do surfactante levando a transição de micelas esféricas reversas para micelas gigantes reversas (Kim et al, 2021); iv) efeito da temperatura (de 20°C a 35°C) na formação dos agregados de lecitina e álcoois do estudo em *iii* usando como solvente o decano. O estudo revelou a formação de micelas gigantes mais curtas com o aumento de temperatura de forma diferente para cada sistema, o que está relacionado com a força da ligação de hidrogênio entre a cabeça da lecitina e os álcoois (Park et al, 2022). Tung e colaboradores (Chang, Lin & Tung, 2020). fizeram um estudo semelhante ao de Lee, onde verificaram que os sais $LaCl_3$, $CaCl_2$ e $LiCl$ induzem a formação de micelas gigantes de lecitina em decano e o aumento de temperatura leva ao enfraquecimento das interações eletrostáticas entre os sais e a cabeça do surfatante, diminuindo o comprimento das micelas gigantes.

O primeiro trabalho reportado para os sistemas formados por lecitina e sais de bile em meio orgânico foi o de Raghavan e colaboradores (Tung, Huang & Raghavan, 2006). Neste trabalho, os autores verificaram a formação de micelas gigantes de lecitina/sal de bile em cicloexano e decano variando as proporções entre os componentes. Neste caso, quando o sal é adicionado, a área efetiva da cabeça polar da lecitina é aumentada devido à diminuição na repulsão eletrostática, levando a formação de estruturas longas semelhantes aos polímeros no solvente apolar, nas quais o sal de bile tem a sua face hidrofóbica orientada para solvente orgânico e a sua face hidrofílica orientada para dentro da micela. As ligações de hidrogênio também são importantes neste caso, tendo em vista que os grupos $-OH$ do sal interage com a cabeça polar da lecitina. Raghavan e colaboradores também mostraram que esses sistemas quando avaliados por reologia fora da região linear de viscoelasticidade apresentaram aumento dos módulos G' e G'' como consequência do aumento de conectividade das micelas (Tung & Raghavan, 2008).

Tung e colaboradores fizeram um estudo semelhante ao de Raghavan, no qual eles avaliaram sistemas formados por ácido de bile e lecitina em cicloexano e decano (Njaum et al, 2013). Eles verificaram que os ácidos de bile quando interagem com a lecitina formam apenas micelas esféricas e os sistemas comportam-se com fluidos newtonianos, diferentemente dos sistemas formados por lecitina e sais de bile. Para entender essa diferença, eles avaliaram os sistemas usando medidas de infravermelho, as quais

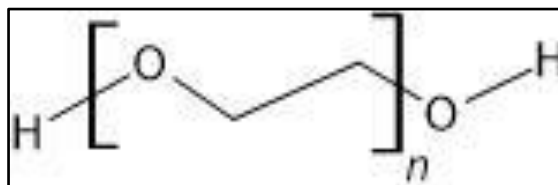
sugeriram que a localização onde pode ocorrer as ligações de hidrogênio entre os grupos OPO⁻ da lecitina com os grupos hidroxilas dos sais e ácidos de bile desempenha um papel fundamental na auto-organização dos agregados de lecitina com os sais ou ácidos de bile. Neste caso, os ácidos de bile penetram mais profundamente no grupo éster de glicerol da lecitina, diminuindo a área efetiva da cabeça polar do fosfolípídio em comparação com os sais de bile, e, conseqüentemente, diminuindo a tendência de formar micelas gigantes inversas. Galantini e colaboradores estudaram a formação de micelas gigantes inversas de lecitina/deoxicolato de sódio/água em cicloexano e verificaram que parte das moléculas de água se posicionam no núcleo das micelas gigantes e a outra parte interagem com a face polar do sal de bile e a cabeça polar da lecitina. Ademais, eles verificaram que mantendo a razão molar da água constante e aumentando o conteúdo do sal de bile, houve um incremento nos módulos G' (módulo de armazenamento) e G'' (módulo de perda), indicando a formação de micelas gigantes ramificadas (Cautela et al, 2017).

De fato, no regime semi-diluído em meio aquoso e orgânico, a adição de solutos monomérico e poliméricos, de natureza hidrofóbica e hidrofílica, pode provocar perda na viscoelasticidade dos sistemas de micelas gigantes (Francisco et al, 2012; Francisco et al 2010) ou até mesmo o inverso, modificar a morfologia dos agregados, ocorrendo a transição de vesículas para micelas gigantes, como observado nos sistemas formados por lecitina/taurocolato com adição de perfenazina (Hanio et al, 2021). A magnitude do efeito nas propriedades reológicas e estruturais depende, principalmente, da natureza química do soluto utilizado (quanto a sua liofilicidade, natureza das interações e quanto ao seu tamanho). Nesse contexto, este trabalho avaliou os aspectos relativos à caracterização dinâmica e estrutural dos sistemas micelares em regimes semidiluídos formados por lecitina e colato de sódio em cicloexano na presença de baixas concentrações de solutos monomérico ou poliméricos de natureza polar (propilenoglicol e polietilenoglicol 400 g mol⁻¹) que podem interagir com diferentes regiões da micela gigante de lecitina/colato de sódio e, assim, provocar mudanças estruturais dos agregados e/ou reológicas dos sistemas. A escolha pelo sistema sal de bile/lecitina em cicloexano no regime de concentração semi-diluído se deve a esse sistema ser conhecido e seus parâmetros estruturais e reológicos estarem bem documentados e serem reproduzíveis. Dessa forma, qualquer mudança nos sistemas autoagregados devido a adição dos solutos poderia ser acompanhada de forma precisa.

O soluto polietilenoglicol (Figura 8), é solúvel em água e em solventes orgânicos, biocompatível, cuja estrutura permite a modificação superficial de substâncias (Kaur,

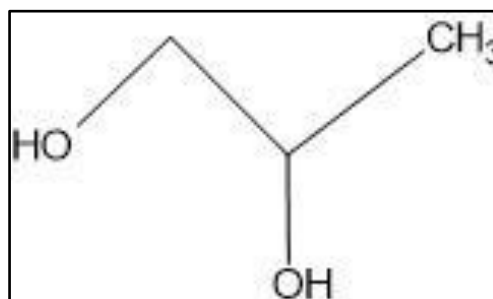
Juglan & Kumar, 2018). É obtido através da polimerização do óxido de etileno (Roberts, Bentley & Harris, 2002), sendo suas principais aplicações a liberação de fármacos e possui efeito laxativo (Le et al, 2020; Pacelli et al, 2021; Alper & Pashankar, 2013). O soluto monomérico propilenoglicol (Figura 9) é um diol alifático solúvel em água e em uma variedade de solventes orgânicos, é viscoso e não possui cheiro (Fiume et al, 2012). É amplamente utilizado na indústria de cosméticos em perfumes e produtos de cuidados pessoais (Pemberton & Kimber, 2023), na indústria alimentícia como aditivo (Bokov et al, 2021) e na indústria farmacêutica para elaboração de sistema para liberação de fármacos (Li et al, 2016).

Figura 8: Estrutura química do polietilenoglicol (PEG)



Fonte: Autoria própria

Figura 9: Estrutura química do propilenoglicol (PG)



Fonte: Autoria própria

A escolha pelos solutos polares têm as seguintes justificativas: i) os solutos polares monomérico e polimérico podem estabelecer ligação de hidrogênio com a cabeça polar da lecitina e com a face polar dos sais de bile, influenciando no empacotamento do agregado e modificando a estrutura da micela gigante; ii) os solutos polares podem ser incorporados ao núcleo das micelas gigantes, levando ao aumento do diâmetro das estruturas; iii) pode ocorrer uma partição dos solutos entre a região da cabeça da lecitina/face polar do sal de bile e entre o núcleo das micelas, levando a uma mudança na dinâmica de quebra e recombinação das micelas, a qual pode ser medida por reologia e

iv) de uma forma mais específica, o soluto monomérico quando comparado com o soluto polimérico poderá afetar mais as interações entre sal de bile/lecitina devido às fortes ligações de hidrogênio que essa molécula pode fazer com os componentes em razão dos seus dois grupos funcionais -OH, mudando assim parâmetros de empacotamento das micelas e as dinâmicas de quebra e recombinação dos agregados; v) a diferença no tamanho dos solutos polares monomérico e polimérico pode influenciar de forma desigual os aspectos estruturais e reológicos dos sistemas em função da diferença de volume desses solutos e da região espacial que podem ocupar e interagir com as micelas gigantes de sal de bile/lecitina

1.5. Reologia

O termo “Reologia” foi definido em 1929 pelo químico Eugene Cook Bingham (1878 – 1945), assim como pela fundação da Sociedade Americana de Reologia, como o estudo da deformação e fluxo da matéria quando uma tensão é aplicada (Barnes, Hutton & Walters, 1993). Suas aplicações consistem em determinar propriedades como plasticidade, elasticidade, viscosidade e escoamento de um material, podendo ter aplicações em compósitos, cerâmicas, metais, óleos, emulsões, entre outros (Guzmán et al, 2018).

Inicialmente acreditava-se que os materiais poderiam apresentar características elásticas, relacionadas com a deformação, baseadas nos modelos de Hooke, ou viscosas, atreladas com a velocidade de escoamento e baseadas nos modelos de Newton. Todavia, a maioria dos materiais possuem ambas as características, sendo conhecidos como viscoelásticos (Macosko, 1994; Tsugawa et al, 2019).

Para explicar a viscoelasticidade de fluidos, diversos modelos podem ser utilizados. O modelo de Maxwell é um dos mais utilizados para explicar a viscoelasticidade de fluidos não-Newtonianos formados por cadeias poliméricas ou micelas gigantes devido a sua relativa simplicidade e bom ajuste das curvas (Macosko, 1994). Seu princípio se baseia na associação de uma mola e um amortecedor, quando uma tensão é aplicada a parte elástica se deforma e retorna ao estado original quando a força é retirada. Enquanto que a parte viscosa não retornará (Semblat, 1997).

Tal modelo pode ser utilizado para descrever micelas gigantes e agregados cilíndricos formados por polímeros ou estruturas semelhantes a cadeias poliméricas em

soluções semi-diluídas (Equações 2 e 3). A partir dele pode ser obtidos parâmetros estruturais (Cates & Candau, 1990; Francisco et al, 2012).

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

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

onde G' é o módulo de armazenamento, G_0 é o módulo de platô, ω é a frequência, τ_R é o tempo de relaxação e G'' é o módulo de perda.

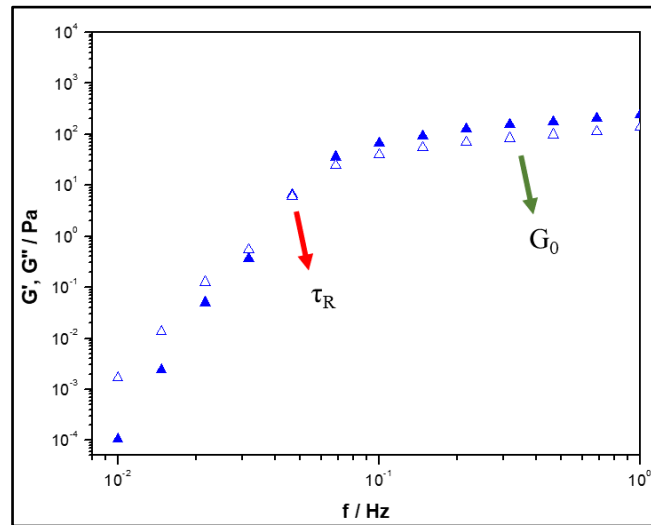
O módulo de platô, relacionado com a densidade de entrelaçamentos, e o tempo de relaxação podem ser deduzidos a partir dos valores dos módulos de G' e G'' e da frequência de crossover (ω_C), respectivamente, no ponto de intersecção apresentados nas Equações 4 e 5. As componentes G' e G_0 estão relacionadas com a parte elástica do material, ao passo que o tempo de relaxamento e G'' estão relacionados com a parte viscosa (Cates & Candau, 1990; Francisco et al, 2010).

$$G'(\omega_C) = G''(\omega_C) = \frac{G_0}{2} \quad \text{Equação 4}$$

$$\omega_C = \frac{1}{\tau_R} \quad \text{Equação 5}$$

Além da aplicação de modelos matemáticos, é possível determinar os parâmetros G_0 e τ_R experimentalmente através da observação formação de um platô e pela intersecção dos módulos de G' e G'' . A Figura 10 apresenta como estes parâmetros podem ser identificados.

Figura 10: Ensaio dinâmico para o sistema 0,2 NaC/Lecitina – PG com indicação dos parâmetros G_0 e τ_R .



Fluidos viscoelásticos podem ser considerados fluidos não-newtonianos, para estes fluidos o comportamento reológico varia de acordo com a taxa de cisalhamento. Se os valores de viscosidade aparente diminuem com a taxa de cisalhamento, os fluidos são considerados pseudoplásticos ou ‘shear thinning’. Se os valores de viscosidade aparente aumentam com a taxa de cisalhamento, os fluidos são chamados de dilatante ou ‘shear thickening’. Ademais, para os fluidos considerados newtonianos a viscosidade não varia com a taxa de cisalhamento (Cates & Candau, 1990; Barnes, Hutton & Walters, 1993).

Neste trabalho, foram realizados três ensaios reológicos, a saber, medida de curvas de fluxo, varredura dinâmica de deformação ou tensão e varredura de frequências. Através das análises de curva de fluxo é possível compreender as propriedades relacionadas a viscosidade aparente (η) dos sistemas conforme ocorre a variação da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). As análises de varredura dinâmica de deformação ou tensão são realizadas previamente às análises de varredura de frequência, é através dela que se determina a região de viscoelasticidade linear, definindo assim a faixa de deformação ou de tensão que deve ser utilizada sem que seja causado a quebra da estruturação dos agregados formados (Barnes, Hutton & Walters, 1993; Macosko, 1994). Por fim, a análise de varredura de frequência é realizada com o intuito de fornecer dados sobre a viscoelasticidade dos sistemas. Isso é fornecido por meio da comparação entre os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') (Barnes, Hutton & Walters, 1993).

1.6. Tamanho e forma de agregados

Com a existência de diversos tipos de agregado que podem ser formados em uma solução com concentração acima da CMC, se torna necessário o desenvolvimento de métodos para analisar e identificar estes agregados. Técnicas que permitem a determinação do tamanho dos agregados, tal qual o espalhamento dinâmico de luz, e técnicas que permitem determinar propriamente a forma e o modo de organização dos agregados, assim como o espalhamento de raios-X a baixo ângulo, são grandes aliadas para compreender estas estruturas supramoleculares.

1.6.1. *Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)*

A determinação do movimento e distribuição do tamanho de agregados pode ser obtido através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering), também conhecida como espectroscopia de correlação de fótons ou espalhamento de luz quase elástico (Schmitz, 1990). Esta técnica consiste na medida da variação de intensidade espalhada de um feixe de luz monocromática que incide em uma amostra. Essa variação de intensidade é causada pelo movimento Browniano das partículas em suspensão e sua proporção depende do tamanho e da velocidade destas partículas, quanto menores as partículas, mais rápido estas se movimentam (Einstein, 1906; Stetefeld et al, 2016). O vetor de espalhamento (q) pode ser determinado de acordo com a Equação 6.

$$q = \frac{4\pi\eta}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad \text{Equação 6}$$

onde η é o índice de refração do solvente, θ é o ângulo de espalhamento da radiação e λ é o comprimento de onda do feixe utilizado (Friskén, 2001; Jia et al, 2023).

Ao relacionar a variação de intensidade da radiação em função do tempo é possível determinar o coeficiente de difusão (D_T) e, através disso, é inferido o tamanho médio da partícula, também chamado de tamanho hidrodinâmico, em suspensão (Anzini et al, 2022). Ao assumir que as partículas em suspensão possuem um formato esférico é possível determinar o raio hidrodinâmico a partir do coeficiente de difusão e da relação de Stokes-Einstein (Equação 7) (Einstein, 1905; Hassan et al, 2015).

$$D_T = \frac{k_B T}{(6\pi\eta R_h)} \quad \text{Equação 7}$$

onde k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura e R_h é o raio hidrodinâmico.

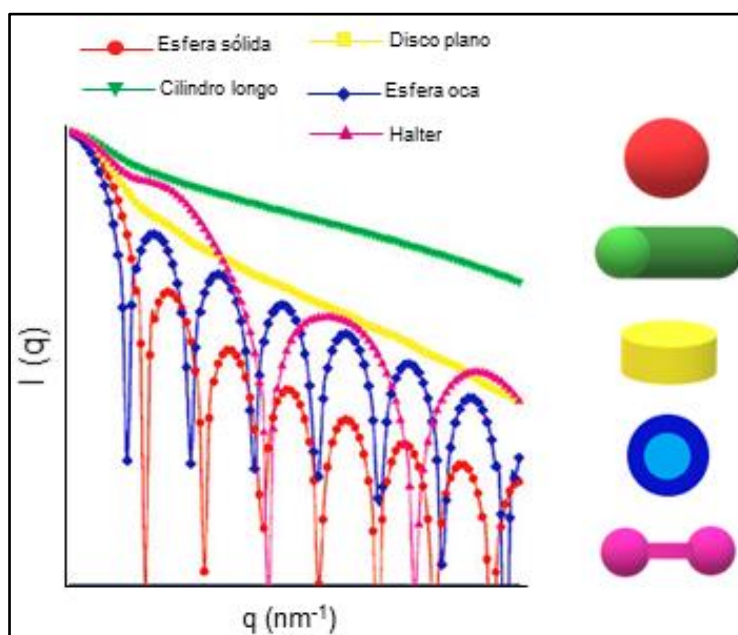
Esta técnica não destrutiva é amplamente utilizada na determinação de partículas com dimensões nanométricas. Sua fácil operação a tornam essencial em áreas como estudo de coloides, proteínas, biologia molecular e vesículas (Nigro et al, 2021).

1.6.2. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)

A técnica de espalhamento de raios-X a baixo ângulo pode ser utilizada para determinar características como tamanho, forma e organização de partículas em suspensão, bem como heterogeneidades estruturais (Pillon & Garné, 2017). Seu princípio de funcionamento consiste na correlação entre os raios-X espalhados elasticamente ao atravessarem uma amostra e interagirem com os elétrons de sua superfície em ângulos pequenos (entre $0,1^\circ$ e 10°). Quanto menor o ângulo, maior a estrutura (Guinier & Fournet, 1955; Dahal et al, 2020).

Para determinar as dimensões do sistema é necessário relacionar o vetor de espalhamento (q) (Equação 1) e a intensidade do espalhamento. Ao adicionar um vetor de dispersão (Q) relacionado a inclinação das curvas obtidas se pode determinar o tipo de agregado formado em uma dispersão. A relação Q^{-1} é característica de estruturas cilíndricas, Q^{-2} se refere a estruturas lamelares e em forma de disco e em Q^{-4} está relacionado com estruturas esféricas (Guilbaud; Saiani, 2011; McDowall, Adams & Seddon, 2022). Além disso, podem ser obtidos perfis diferentes dependendo da quantidade de estruturas com tamanhos diferentes (McDowall, Adams & Seddon, 2022). A Figura 10 apresenta exemplos de curvas que podem ser obtidas, para um sistema monodisperso, através de análises de SAXS e a morfologia dos agregados associados a cada curva.

Figura 11: Exemplos de curvas e respectivas morfologias dos agregados obtidas através de SAXS.



Fonte: Adaptado de Svergun & Koch (2003), Copyright (2003), com permissão da IOP Publishing.

Existem basicamente dois tipos de equipamentos utilizados para SAXS, o de fontes de laboratório e o de fontes sincrotron. Sua principal diferença está relacionada com a velocidade do fluxo dos raios-X (Qian et al, 2021). Diversas vantagens podem ser associadas com esta técnica, tais como pouca quantidade necessária de amostra, não é destrutiva e dificilmente será necessário um pré-tratamento (Feng et al, 2019).

É amplamente utilizado para determinar as propriedades de metais, polímeros, sistemas biológicos e porosidade de materiais. É adequado para determinar tamanhos de partículas entre 1 e 100 nm (Feng et al, 2019; Posbeyikian et al, 2021).

1.7. Objetivos e Justificativa

A adição de solutos pode promover a mudança de morfologia de agregados de sal de bile/lecitina, e a magnitude do efeito dos solutos depende, principalmente, da estrutura química da molécula e das interações intermoleculares estabelecidas com os surfactantes num determinado solvente. Isto porque os diferentes solutos podem interagir de forma diferente em cada região da estrutura formada. Assim, neste trabalho buscou-se compreender como a adição de quantidades diminutas dos solutos polares propilenoglicol

(PG) e polietilenogilcol (PEO) influenciou a formação de agregados de sal de bile e lecitina em cicloexano em diferentes proporções de sal/lecitina, bem como a diferença na estrutura química do sal de bile afeta as interações estabelecidas entre os componentes, Em especial, como os solutos monomérico e polimérico afetam a morfologia dos agregados formados e, conseqüentemente, o comportamento reológico dos sistemas formados por Sal de bile/Lecitina.

Deste modo, foram obtidos agregados formados a partir de soluções de lecitina e três sais de bile diferentes (taurodeoxicolato de sódio, deoxicolato de sódio e colato de sódio) em cicloexano, em três proporções diferentes de sal de bile/lecitina (mol/mol) (0,2, 0,4 e 0,8), com e sem a adição dos solutos polares PG ou PEG, para uso como modificadores reológicos e possíveis sistemas para encapsulação de moléculas de interesse. Os sistemas foram analisados por reologia, tamanho de partículas (DLS) e espalhamento de raios-X em baixos ângulos (SAXS), de forma a entender como o comportamento reológico dos sistemas está relacionado com o tamanho e forma dos agregados de sal de bile/lecitina formados em cicloexano na presença de pequenas quantidades de PG e PEG, ou seja, avaliar como os solutos polares afetaram a automontagem dos agregados.

Capítulo 2: Metodologia

2.1. Material

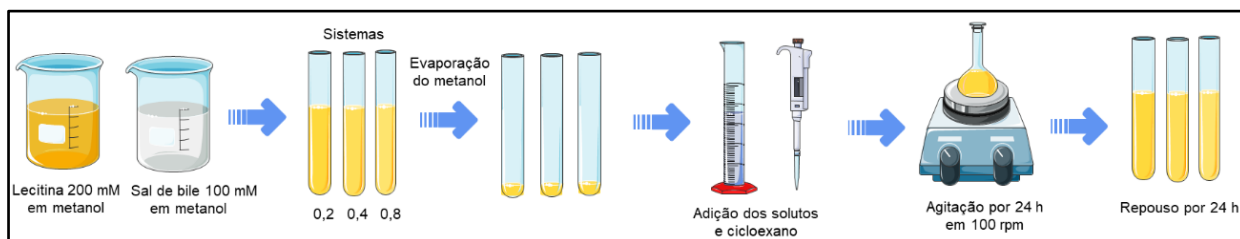
Para a elaboração das soluções estoques foi utilizada Lecitina de Soja ($327,27 \text{ g.mol}^{-1}$) [CAS-No: 8002-43-5] adquirida pela Sigma®, taurodeoxicolato de sódio ($521,70 \text{ g.mol}^{-1}$) [CAS-No: 1180-95-6; Lote 3878873], deoxicolato de sódio ($414,55 \text{ g.mol}^{-1}$) [CAS-No: 302-95-4; Lote VM1022604 219], colato de sódio ($430,55 \text{ g.mol}^{-1}$) [CAS-No: 206986-87-0; Lote SLCP7115], todos adquiridos pela Merck Millipore ® e metanol [CAS-No 67-56-1; Lote STBK9877] (Sigma®). Os sistemas de Sal de bile/Lecitina foram preparados com a adição de cicloexano (Dinâmica®) [CAS-No: 100-82-7; Lote 119902], polietilenglicol [CAS-No: 25322-68-3] (Sigma-Aldrich®) 400 g.mol^{-1} e propilenoglicol [Lote: 181019] (Synth®) $76,10 \text{ g.mol}^{-1}$.

2.2. Preparo dos sistemas de sal de bile/Lecitina

Os sistemas foram preparados a partir de quantidades desejadas das soluções estoques de lecitina de soja $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e sal de bile $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ dissolvidos em metanol. Os sais de bile utilizados foram taurodeoxicolato de sódio (NaTDC), deoxicolato de sódio (NaDC) e colato de sódio (NaC). Foram utilizadas 3 proporções para os sistemas sais de bile/lecitina, estas foram 0,2; 0,4 e 0,8 (mol/mol), ou seja, as concentrações finais de sal de bile/lecitina foram $20 \text{ mM}/ 100\text{mM}$, $40 \text{ mM}/ 100 \text{ mM}$ e $80 \text{ mM}/ 100 \text{ mM}$, respectivamente

Em seguida, os sistemas foram mantidos em agitação magnética em 100 rpm por 1 hora. Após, estes foram mantidos na estufa a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ até a evaporação completa do metanol, e, posteriormente os sistemas permaneceram na capela até atingirem a temperatura ambiente. Logo após, para os sistemas contendo NaTDC e NaDC foram adicionados 10 mL de cicloexano e 0,004 g de polietilenglicol (adição de $1 \times 10^{-5} \text{ mol}$ do polímero) 400 g.mol^{-1} ou 0,001g de propilenoglicol (aproximadamente $1 \times 10^{-5} \text{ mol}$ da molécula). Nos sistemas contendo NaC foram adicionados 20 mL de cicloexano e 0,008 g de polietilenglicol (PEG) ou 0,002 g de propilenoglicol (PG), mantendo as proporções estudadas para os outros sais. Após, os sistemas permaneceram em agitação magnética por 24 horas a 100 rpm e antes das análises os sistemas ficaram em repouso por, pelo menos, 24 horas. A Figura 12 apresenta um esquema da preparação das amostras.

Figura 12: Imagem ilustrando o processo de obtenção dos sistemas de lecitina e sais de bile.

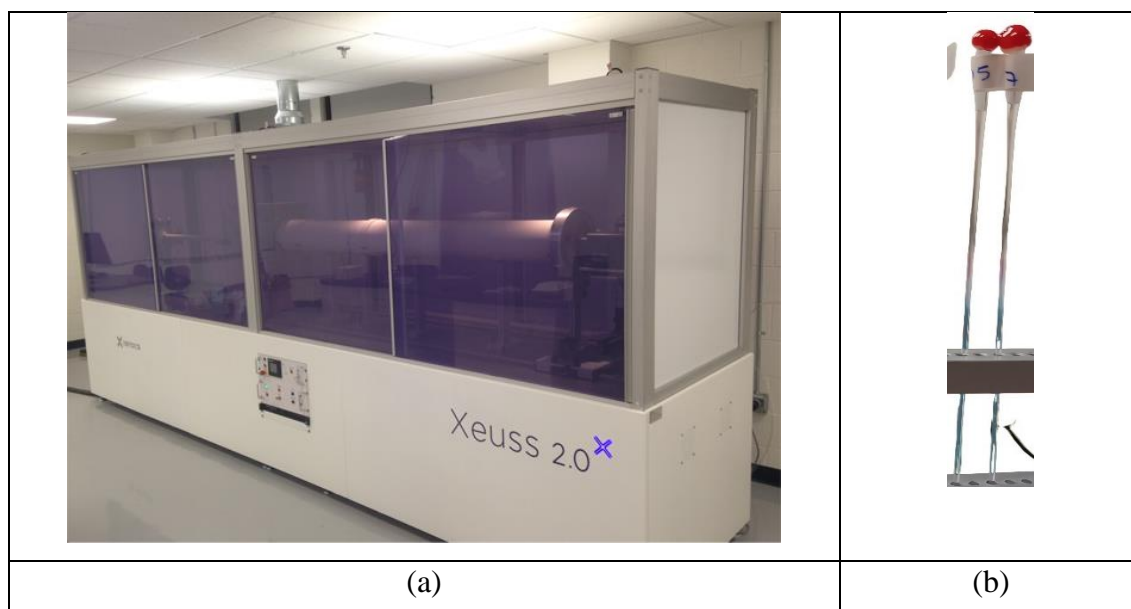


Fonte: Autoria própria.

2.3. Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo (SAXS)

Para a análise de formato dos agregados formados foi utilizado o equipamento Xenocs Xeuss 2.0 (Figura 13-a). As amostras foram dispostas em capilares de vidro e selados com resina (Figura 13-b) para garantir a vedação. Foi utilizada fonte de raios-X GeniX 3D com alvos de cobre ($\sim 5,4$ keV), juntamente com detector Dectris Pilatus 3R 300k. Foi realizada a correção dos espectros através da leitura de um capilar vazio e outro com o buffer de cicloexano.

Figura 13: (a) Equipamento Xeuss 2.0; (b) capilares utilizados para as amostras

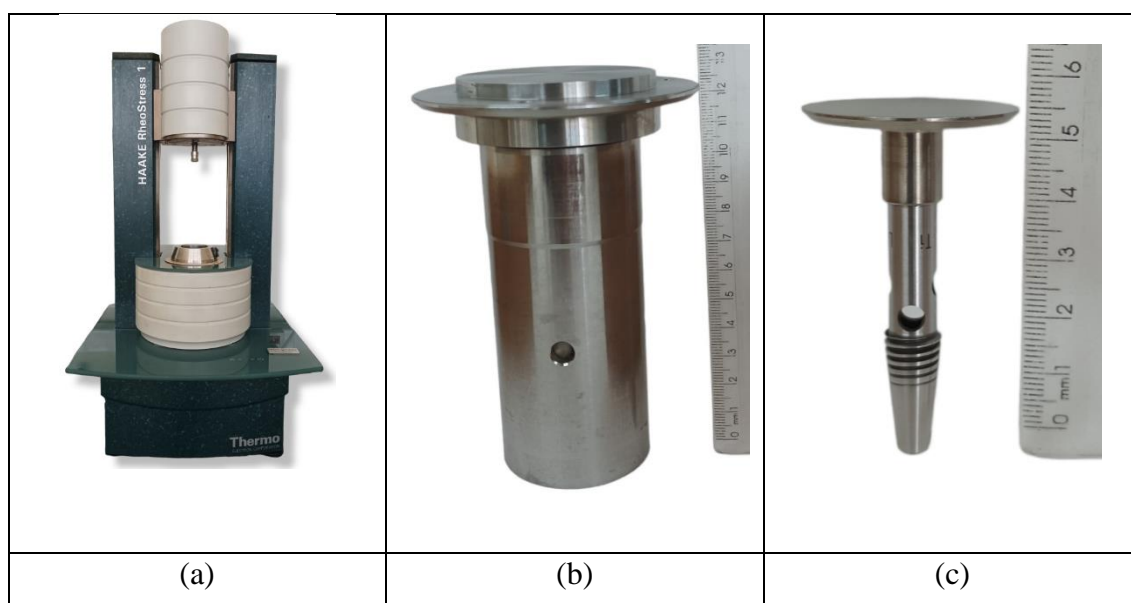


Fonte: (a) Bañuelos, J. L. (2016); (b) Arquivo pessoal.

2.4. Reologia

As análises de reologia dos sistemas foram feitas com o auxílio do reômetro Haake RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific®) (Figura 14-a), utilizando o sistema de geometria de placas paralelas P61 (Figura 14-b) para a base e PP35Ti (Figura 14-c) para o rotor, com gap de 1 mm. Para as medidas das soluções estoques, por serem menos viscosas, foi utilizado conjunto de geometria Z20 Din Ti (Figura 14-d e 14-e). As medidas do modo oscilatório foram realizadas dentro da região de viscoelasticidade linear determinada através de medidas de varreduras dinâmicas de tensão. Para as medidas de curva de fluxo foi utilizado o intervalo de 0,01 a 100 s^{-1} de taxa de cisalhamento, as medidas de frequência foram realizadas no intervalo de 0,01 a 100 Hz com $\tau = 0,1$ Pa. A temperatura das análises foi controlada através de banho termostático externo e foi mantida em 25,0 °C, com precisão de 0,1 °C.

Figura 14: (a) Equipamento Haake RheoStress 1; (b) base P61; (c) rotor PP35 Ti; (d) base Z20 Din Ti e (e) rotor Z20 Din Ti





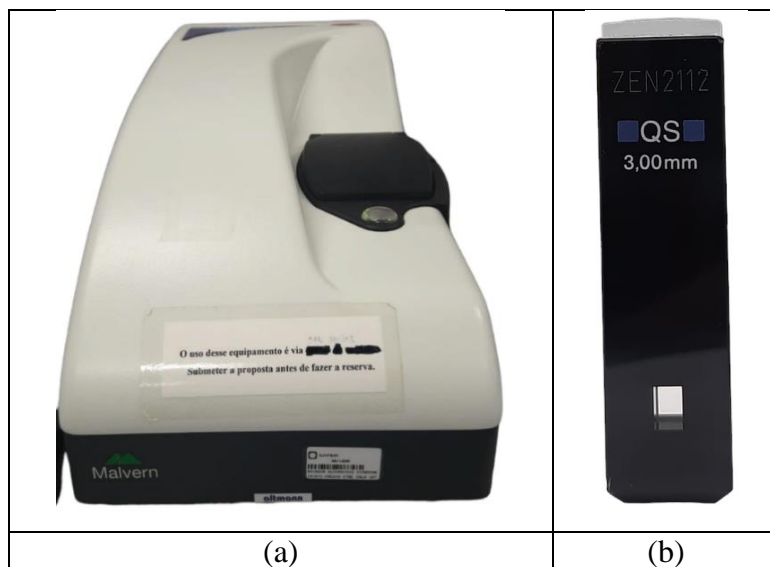
Fonte: Arquivo pessoal.

2.5. Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

Para a análise de tamanho dos agregados formados nos sistemas foi utilizado o equipamento Zetasizer (Malvern®) (Figura 15-a). Para tal foi utilizada uma cubeta de quartzo ZEN2112 (Figura 15-b), de 1 cm de caminho óptico, com uma tampa de plástico para evitar a evaporação do solvente utilizado. O comprimento de onda utilizado foi de 632,8 nm. As leituras foram realizadas em triplicata e para a elaboração dos perfis de distribuição de tamanho foi realizada uma média entre as três leituras utilizando o programa Zetasizer Software®.

A análise estatística dos tamanhos obtidos foi realizada por ANOVA utilizando um fator, com diferença significativa de 5%. Os tamanhos foram comparados através do teste Tukey, com 5% de nível de significância. Os cálculos foram realizados por meio do software Minitab 18.

Figura 15: (a) Equipamento Zetasizer; (b) cubeta de quarto utilizada nas análises



Fonte: Arquivo pessoal.

Capítulo 3: Resultados e Discussão

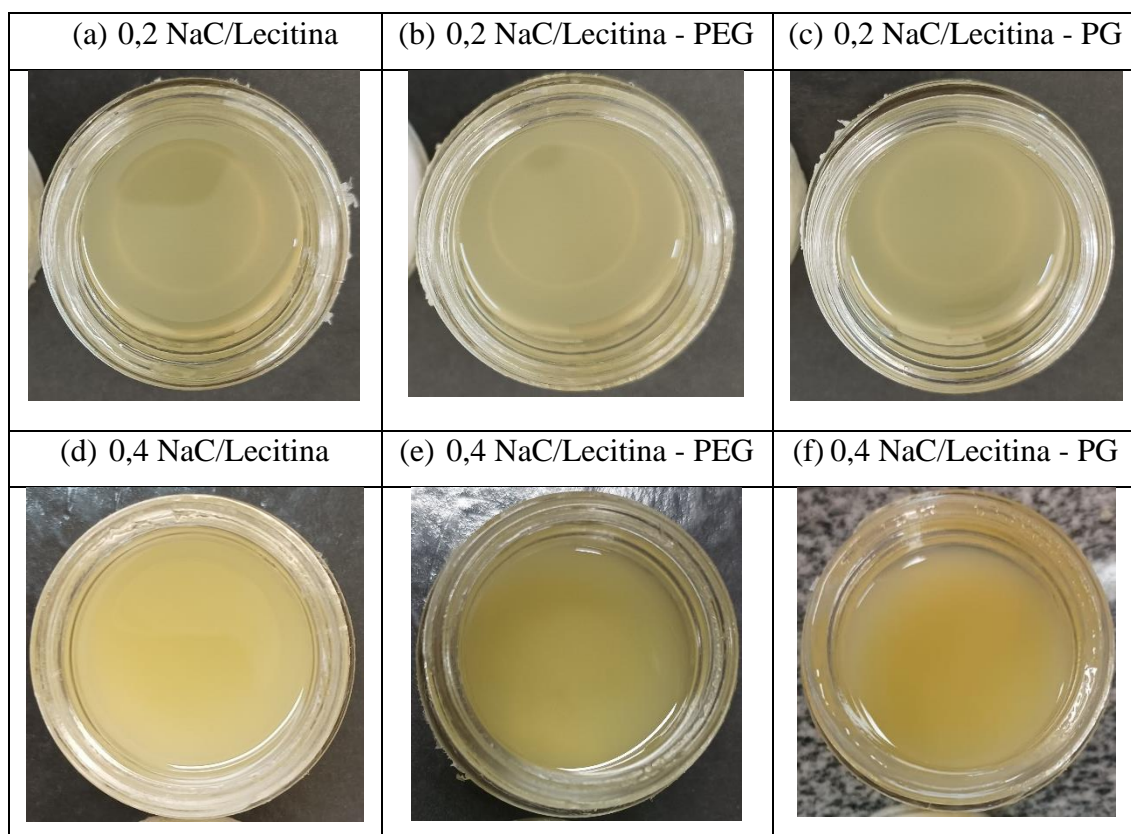
3.1. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaC/Lecitina

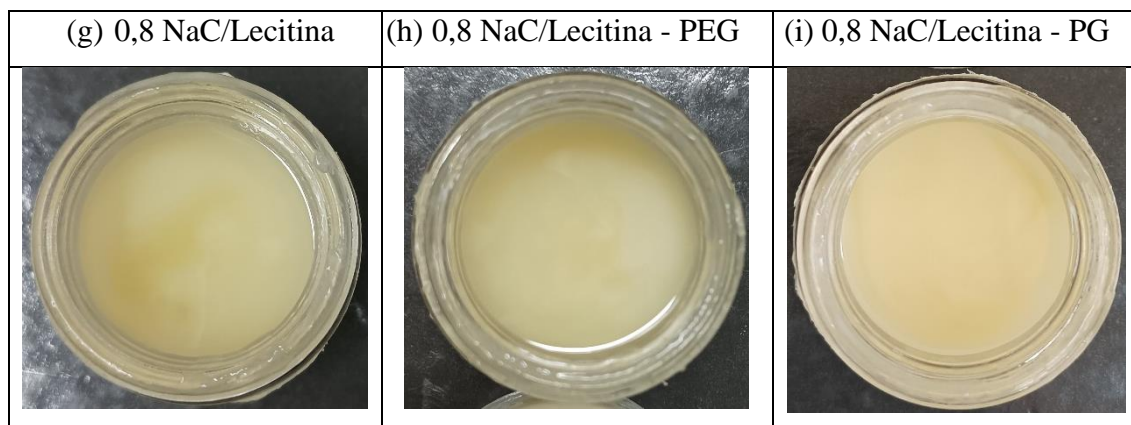
A Figura 16 apresenta os sistemas de NaC/Lecitina com e sem adição dos solutos.

Os sistemas na proporção de 0,2 (Figura 16a – c) apresentaram coloração amarelada e são os mais translúcidos. Para os sistemas na proporção de 0,4 (Figura 16d – f), permaneceram com coloração amarelada, porém houve um aumento na opacidade destes sistemas. Na proporção de 0,8 (Figura 16g – i) foi observado uma coloração mais esbranquiçada devido a maior concentração de sal de bile, além disso houve um aumento pronunciado da opacidade.

Ademais, não foram observadas separação de fases para nenhum dos sistemas obtidos.

Figura 16: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaC com e sem adição de PEG e PG.

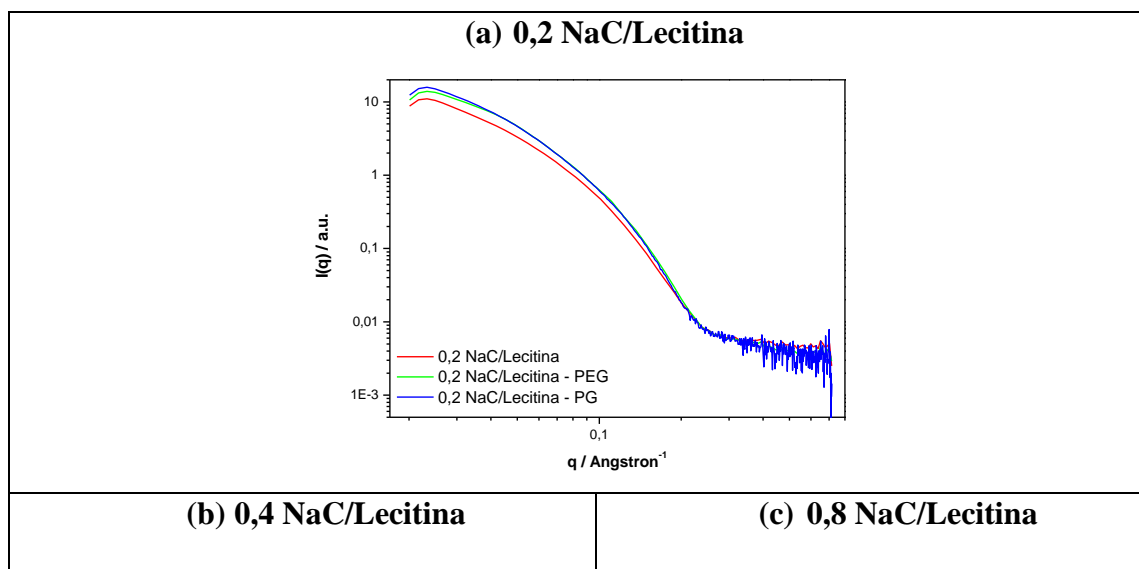


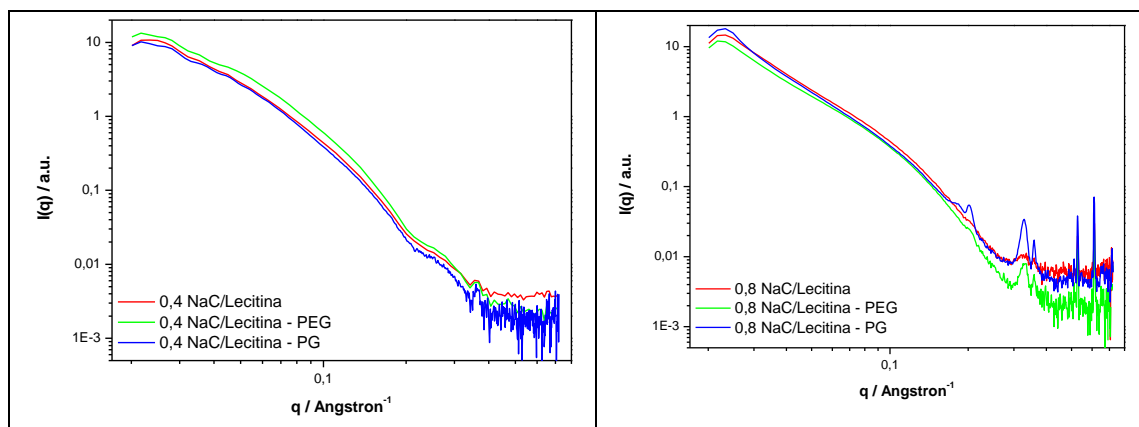


Fonte: Arquivo pessoal.

Foram realizadas análises de SAXS com o objetivo elucidar o tamanho e a morfologia dos agregados formados (Pillon & Garné, 2017). Por meio das interpretações das inclinações das curvas foi obtido as possíveis estruturas formadas e seus picos de refração, os valores obtidos para os sistemas NaC/Lecitina estão apresentados na Tabela 5. Os comprimentos obtidos a partir dos picos observados foram calculados com base na Lei de Bragg ($d = 2\pi/q$) (Li et al, 2016). As curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaC/Lecitina estão apresentadas na Figura 17.

Figura 17: Curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaC/Lecitina sendo (-) sem solutos; (-) PEG e (-) PG.





As curvas de SAXS apresentaram regiões lineares devido ao decaimento da lei de potência da intensidade de espalhamento ($I(q) \propto q^\alpha$), onde as inclinações (α) dessas regiões lineares correspondem à morfologia dos agregados de NaC/Lecitina. A Tabela 1 mostra os valores de alfa (α) em regiões intermediárias de q e as morfologias dos agregados resultantes.

Tabela 1: Valores de inclinação (q - α) e possíveis estruturas formadas para os sistemas NaC/Lecitina.

Sistema	Inclinação q^α (intermediário e alto q)	Estruturas
0,2 NaC/Lecitina	-1,89; -4,46	Micela gigante e lamela
0,2 NaC/Lecitina - PEG	-1,49; -3,07	Micela gigante e lamela
0,2 NaC/Lecitina - PG	-1,69; -3,2	Micela gigante e lamela
0,4 NaC/Lecitina	-1,83; -3,12	Micela gigante e lamela
0,4 NaC/Lecitina - PEG	-1,76; -3,82	Micela gigante e lamela
0,4 NaC/Lecitina - PG	-1,71; -3,96	Micela gigante e lamela
0,8 NaC/Lecitina	-2,34; -4,04	Lamela
0,8 NaC/Lecitina - PEG	-2,25; -3,99	Lamela
0,8 NaC/Lecitina - PG	-2,88; -3,11	Lamela e fase hexagonal

Os sistemas de NaC/Lectina com valores de α para q intermediário mais próximos de -1 e -2 são aqueles formados por agregados cilíndricos e lamelares, respectivamente (Cheng et al, 2014). Os dados mostram que há uma mistura de agregados cilíndricos e

lamelares para as proporções 0,2 e 0,4 NaC/Lecitina, tendo em vista que os valores de α estão entre -1 e -2. Para os sistemas 0,8 NaC/Lecitina com e sem os solutos observa-se que α é entre -2 e -3 indicando a presença de agregados lamelares (McDowall, Adams & Seddon). É interessante pontuar que a adição dos solutos polares aos sistemas nas proporções 0,2 e 0,4 levaram a valores de α mais próximos de -1 em comparação com os sistemas sem os solutos. Este resultado indica uma maior formação de micelas gigantes nestas proporções na presença dos solutos e explica, portanto, a maior viscoelasticidade desses sistemas com a adição de PEG e PG. As regiões em alto q apresentaram valores de α entre a -3 e -4 devido à região esférica dos agregados (McDowall, Adams & Seddon, Jover et al, 2021).

Além disso, todos os sistemas exibiram ombros em baixos valores de q (em torno de $0,01 \text{ \AA}^{-1}$). Os sistemas NaC/Lecitina nas proporções 0,4 e 0,8 também apresentaram picos em altos valores de q , indicando a formação de fases cada vez mais ordenadas com o aumento na concentração do sal de bile, principalmente para os sistemas formados na proporção 0,8 NaC/Lecitina. A Tabela 2 e 3 apresenta os valores de q para os ombros e os picos, bem como os e seus respectivos comprimentos e os valores teóricos para as fases lamelar e hexagonal.

Tabela 2: Valores de q para ombros e picos encontrados e seus respectivos comprimentos para os sistemas NaC/Lecitina.

Sistema	Ombros / Picos (\AA^{-1})	Tamanho (nm)
0,2 NaC/Lecitina	0,022	19,4
0,2 NaC/Lecitina - PEG	0,023	18,6
0,2 NaC/Lecitina - PG	0,0232	18,4
0,4 NaC/Lecitina	0,0235; 0,028; 0,034 e 0,044	18,2; 15,2; 12,5 e 9,7
0,4 NaC/Lecitina - PEG	0,0217; 0,0264; 0,035 e 0,044	19,7; 16,2; 12,3 e 9,7
0,4 NaC/Lecitina - PG	0,0217; 0,028; 0,030 e 0,034	19,7; 15,2; 14,2 e 12,5

0,8 NaC/Lecitina	0,022; 0,209; 0,33; 0,43; 0,52 e 0,61	19,4; 2,0; 1,3; 0,9; 0,8 e 0,7
0,8 NaC/Lecitina - PEG	0,021; 0,20; 0,33; 0,39; 0,52 e 0,61	20,3; 2,1; 1,3; 1,0; 0,8 e 0,7
0,8 NaC/Lecitina - PG	0,023; 0,20; 0,27; 0,32; 0,35; 0,52 e 0,60	18,6; 2,0; 1,6; 1,3; 1,2; 0,8 e 0,7

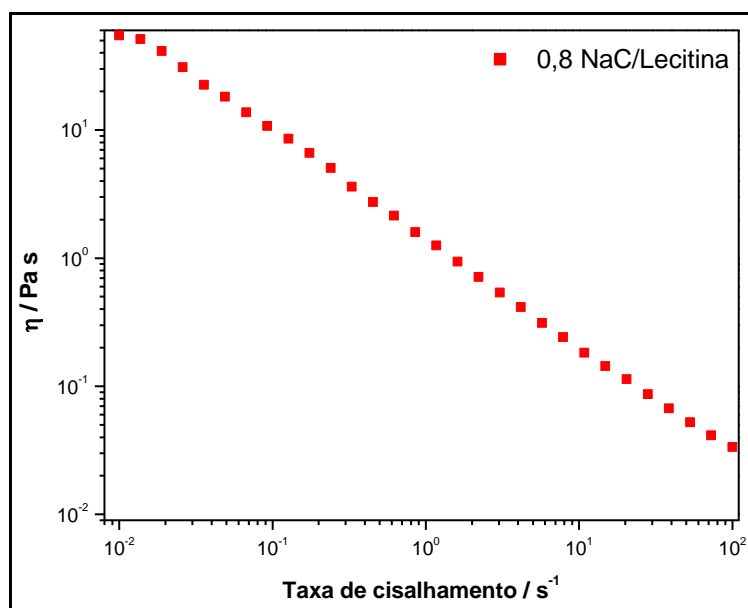
Tabela 3: Picos de difração encontrados para os sistemas 0,8 NaC/Lecitina e picos esperados para fases lamelar e hexagonal.

Sistema	Picos de difração	Fase lamelar ($\sqrt{1}$; $\sqrt{4}$; $\sqrt{9}$ e $\sqrt{16}$)	Fase hexagonal ($\sqrt{1}$; $\sqrt{3}$; $\sqrt{4}$ e $\sqrt{7}$)
0,8 NaC/Lecitina	0,209; 0,33; 0,43; 0,52 e 0,61	0,42 e 0,62	--
0,8 NaC/Lecitina - PEG	0,20; 0,33; 0,39; 0,52 e 0,61	0,40 e 0,61	0,35 e 0,40 e 0,53
0,8 NaC/Lecitina - PG	0,20; 0,27; 0,32; 0,35; 0,52 e 0,60	0,40 e 0,61	0,35 e 0,40 e 0,53

As amostras de NaC/Lectina apresentaram ombros em baixos valores de q relativos a comprimentos entre 18,2 a 20,3 nm nomeados de comprimento de persistência l_p das micelas, ou seja, é o comprimento definido em que a micela gigante é rígida (Cheng et al, 2014). Este resultado está de acordo com os dados obtidos por Raghavan *et. al.* (Tung, Huang & Raghavan, 2006) em que micelas gigantes de lecitina e sais de bile em cicloexano apresentou um valor de l_p 19 nm, assim como outros trabalhos (Cheng et al, 2014). A adição dos solutos PEG e PG ao sistema 0,2 NaC/Lecitina diminuiu o tamanho do comprimento de persistência das micelas, isto é, promoveu a formação de micelas mais flexíveis. Entretanto, a adição de PEG e PG levou à formação de micelas mais rígidas na proporção de 0,4, tendo em vista o aumento nos valores de l_p . Para os sistemas 0,8 NaC/Lecitina, a adição dos solutos, principalmente as moléculas de PG, levou à formação de estruturas mais ordenadas – lamelas e fases hexagonais, evidenciando uma mistura de diferentes agregados nesta proporção, com espaçamentos bem definidos.

A Figura 18 dispõe de um gráfico de viscosidade aparente η pela taxa de cisalhamento $\dot{\gamma}$ (curva de fluxo) obtida para o sistema 0,8 NaC/Lecitina. Nela é possível observar o fenômeno de *shear thinning*, ou seja, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento (Barnes, Hutton & Walters, 1993)

Figura 18: Curva de fluxo do sistema 0,8 NaC/Lecitina.



A Tabela 4 apresenta os valores obtidos de viscosidade no platô (η_0) para os sistemas formados por NaC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos. A grandeza η_0 é obtida no limite da taxa de cisalhamento tendendo a zero e possui relação com o tamanho da estrutura formada, bem como a densidade de entrelaçamento, portanto quanto maior o valor de η_0 , mais estruturado é o sistema (Okuro et al, 2020a; Barnes, Hutton & Walters, 1993; Francisco et al, 2010).

Tabela 4: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.

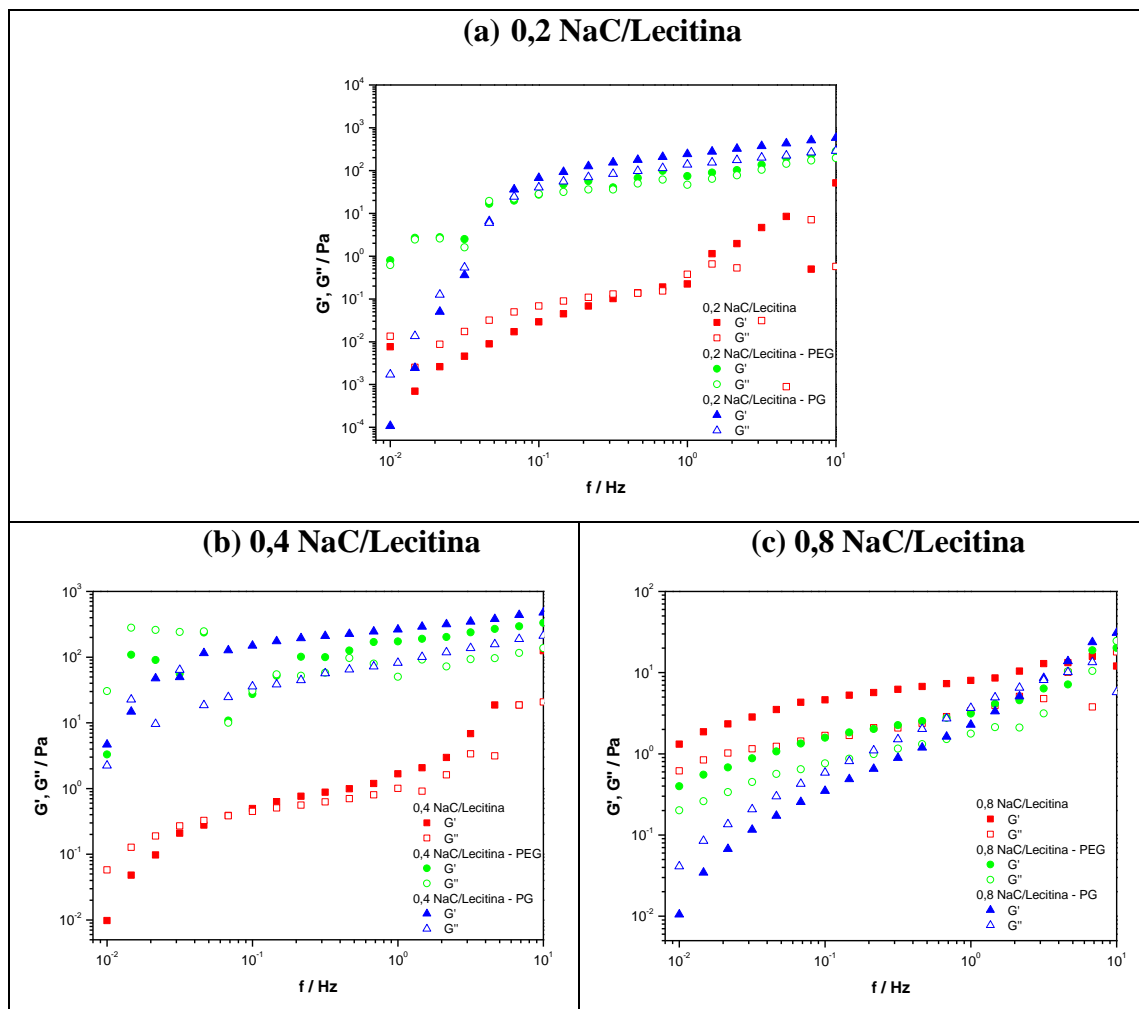
NaC/Lecitina			
Sistemas	NaC/Lecitina η_0 (Pa s)	PEG η_0 (Pa s)	PG η_0 (Pa s)
0,2	2,75	$1,4 \times 10^1$	$6,2 \times 10^1$
0,4	$1,3 \times 10^1$	$4,7 \times 10^2$	$2,13 \times 10^3$
0.8	$5,5 \times 10^1$	3×10^1	9,5

A adição dos solutos PEG e PG nas proporções de NaC/Lecitina 0,2 e 0,4 levou ao aumento nos valores de η_0 . Este resultado indica que os agregados formados se encontram mais entrelaçados e/ou formaram estruturas mais longas, resultando em

sistemas com maior viscosidade (Cates & Candau, 1990; Francisco et al, 2010; Jora, Sabadini & Raghavan, 2020). Entretanto, para a proporção 0,8 NaC/Lecitina, a adição dos solutos provocou uma redução da viscosidade no platô dos sistemas, que pode ser explicado pela formação de estruturas cilíndricas mais curtas e/ou com menor grau de entrelaçamentos (Njauw et al, 2013).

A Figura 19 apresenta os dados obtidos para os ensaios dinâmicos para os sistemas NaC/Lecitina com e sem adição de solutos.

Figura 19: Ensaio dinâmico dos sistemas NaC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' .



O sistema na proporção 0,2 e 0,4 NaC/Lecitina sem solutos apresentou o módulo de G'' (módulo de perda) maior do que G' (módulo de armazenamento) até 1 Hz, após

os valores dos módulos se invertem. Deste modo, em frequências baixas o sistema apresenta comportamento viscoso e em frequências maiores apresenta comportamento elástico, típico de sistemas de micelas gigantes (Cautela et al, 2017). A adição de PEG e PG provocou um aumento dos valores dos módulos G' e G'' , indicando um aumento na viscoelasticidade dos sistemas, ou seja, a adição dos solutos promoveu uma estruturação dos agregados de NaC/Lecitina nessas proporções. A proporção 0,8 NaC/Lecitina apresentou comportamento diferente das outras proporções. Neste caso, a adição dos solutos polares diminuiu os valores de G' e G'' , indicando uma diminuição na viscoelasticidade dos sistemas. Os parâmetros reológicos módulo no platô e o tempo de relaxação G_0 e τ_R , respectivamente, foram obtidos experimentalmente, os quais estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.

Sistema	G_0 (Pa)	τ_R (s)
0,2 NaC/Lecitina	2×10^{-1}	2,2
0,2 NaC/Lecitina - PEG	$2,6 \times 10^2$	21,7
0,2 NaC/Lecitina - PG	$4,8 \times 10^2$	21,7
0,4 NaC/Lecitina	1,0	14,9
0,4 NaC/Lecitina - PEG	$2,8 \times 10^2$	21,7
0,4 NaC/Lecitina - PG	$3,8 \times 10^2$	66,6
0,8 NaC/Lecitina	7,4	0,1
0,8 NaC/Lecitina - PEG	2,6	0,1
0,8 NaC/Lecitina - PG	1,2	0,3

* Dados com a marcação (---) indicam que não foi possível determinar o valor experimentalmente.

A adição dos solutos polares PEG e PG levaram a um aumento nos valores de G_0 e τ_R para os sistemas NaC/Lecitina formados nas proporções 0,2 e 0,4, indicando um aumento nos entrelaçamentos entre as micelas e um maior tempo de quebra e recombinação dos agregados, e, portanto, aumentando a viscoelasticidade dos sistemas (Kim et al, 2021). Os valores de G_0 e τ_R obtidos neste trabalho estão de acordo com os observados nos trabalhos de Raghavan *et. al.* (Tung, Huang & Raghavan, 2006). Para a amostra 0,8 NaC/Lecitina, a adição de PEG diminuiu os valores de G_0 , indicando a

formação de uma sistema mais fluido, enquanto que a adição de moléculas de PG diminuiu ambos os valores de G_0 e τ_R , justificando a sua baixa viscoelasticidade.

Assim, os sistemas formados na proporção 0,2 NaC/Lecitina com adição dos solutos apresentaram os maiores valores de G_0 , e, portanto, são os sistemas mais viscoelásticos obtidos. Este resultado indica que os solutos interagem diferentemente com os agregados de NaC/Lecitina e essas interações são dependentes das composições dos sistemas, como observado em outros trabalhos (Francisco et al, 2010).

As razões entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas com a adição dos solutos ($G_{0,1}$ e $\tau_{R,1}$) e sem adição dos solutos ($G_{0,0}$ e $\tau_{R,0}$) nas diferentes proporções NaC/Lecitina (Tabela 6) podem ser um indicativo dos efeitos da adição dos solutos sobre a viscoelasticidade dos sistemas.

Tabela 6: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaC/Lecitina com e sem solutos.

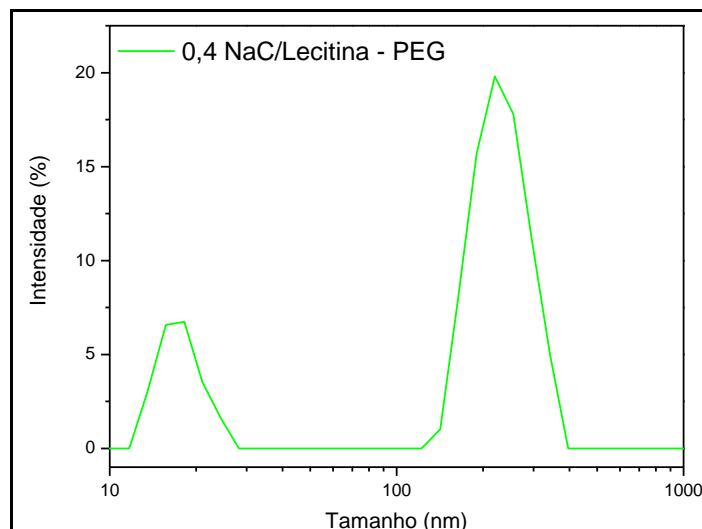
NaC/Lecitina	PEG		PG	
	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$
0,2	$1,3 \times 10^3$	9,8	$2,4 \times 10^3$	9,8
0,4	$2,8 \times 10^3$	1,5	$3,8 \times 10^3$	4,5
0,8	$3,5 \times 10^{-1}$	1	$1,6 \times 10^{-1}$	3

Os resultados mostram que a adição dos solutos PEG e PG aumentaram as razões entre os módulos no platô, G_0 , e as razões entre os tempos de relaxação, τ_R , em relação aos sistemas formados nas proporções NaC/Lecitina 0,2 e 0,4 sem adição dos solutos, tendo as moléculas de PG um maior efeito na formação de um sistema mais viscoelástico na proporção 0,4 NaC/Lectina, embora em números absolutos os sistemas 0,2 NaC/Lecitina apresentaram uma maior viscoelasticidade. Também é importante ressaltar que as moléculas de PG promoveram um aumento no tempo de relaxação das estruturas agregadas em todas as proporções.

As análises de reologia e SAXS indicaram que a formação de micelas gigantes contribuiu para um maior número de entrelaçamentos dos agregados, e, portanto, tem-se um sistema mais viscoelástico, enquanto os sistemas com alto conteúdo de lamelas e fases hexagonais diminuiram a viscoelasticidade dos sistemas.

A Figura 20 mostra um gráfico típico de distribuição de tamanhos dos agregados de NaC/Lecitina (0,4 NaC/Lecitina com adição de PEG), nas quais duas populações de agregados com tamanhos entre 17 nm e 224 nm foram obtidas.

Figura 20: Distribuição de tamanho de partículas para o sistema 0,4 NaC/Lecitina com adição de PEG.



A Tabela 7 apresenta os tamanhos dos agregados, bem como a porcentagem de cada população, para os sistemas formados por NaC/Lecitina com e sem a adição de solutos.

Tabela 7: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

Sistema	1 – 100 nm / %	101 – 650 nm / %	> 651 nm / %
Sal de bile/ lecitina 0,2 (mol/mol)			
NaC/Lecitina	-	246 / 66 ^(b)	5454 / 34 ^(a)
PEG	1,28 / 2,8 ^(e) ; 6 / 7,7 ^(e) ; 10,3 / 18,1 ^(e) ; 54 / 25,4 ^(d) ; 80 / 46 ^(c)	-	-

PG	-	252,1 / 31 ^(b)	834,2 / 41,5 ^(b) ; 5548 / 27,5 ^(a)
Sal de bile/ lecitina 0,4 (mol/mol)			
NaC/Lecitina	13,5 / 9,9 ^(c*)	190 / 90,1 ^(b*, c*)	-
PEG	16,8 / 25,5 ^(c*)	224 / 74,5 ^(b*, c*)	-
PG	-	-	700 / 69,8 ^(b*) ; 5687 / 30,2 ^(a*)
Sal de bile/ lecitina 0,8 (mol/mol)			
NaC/Lecitina	1,8 / 4,3 ^(c**) ; 20 / 1,4 ^(c**)	253 / 94,2 ^(a**)	-
PEG	3 / 5,2 ^(c**)	166,8 / 40,4 ^(b**) ; 253 / 54,4 ^(a**)	-
PG	Não foi possível medir por DLS		

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Médias com o símbolo são relativas à proporção de 0,4 e médias com ** são relativas à proporção de 0,8.*

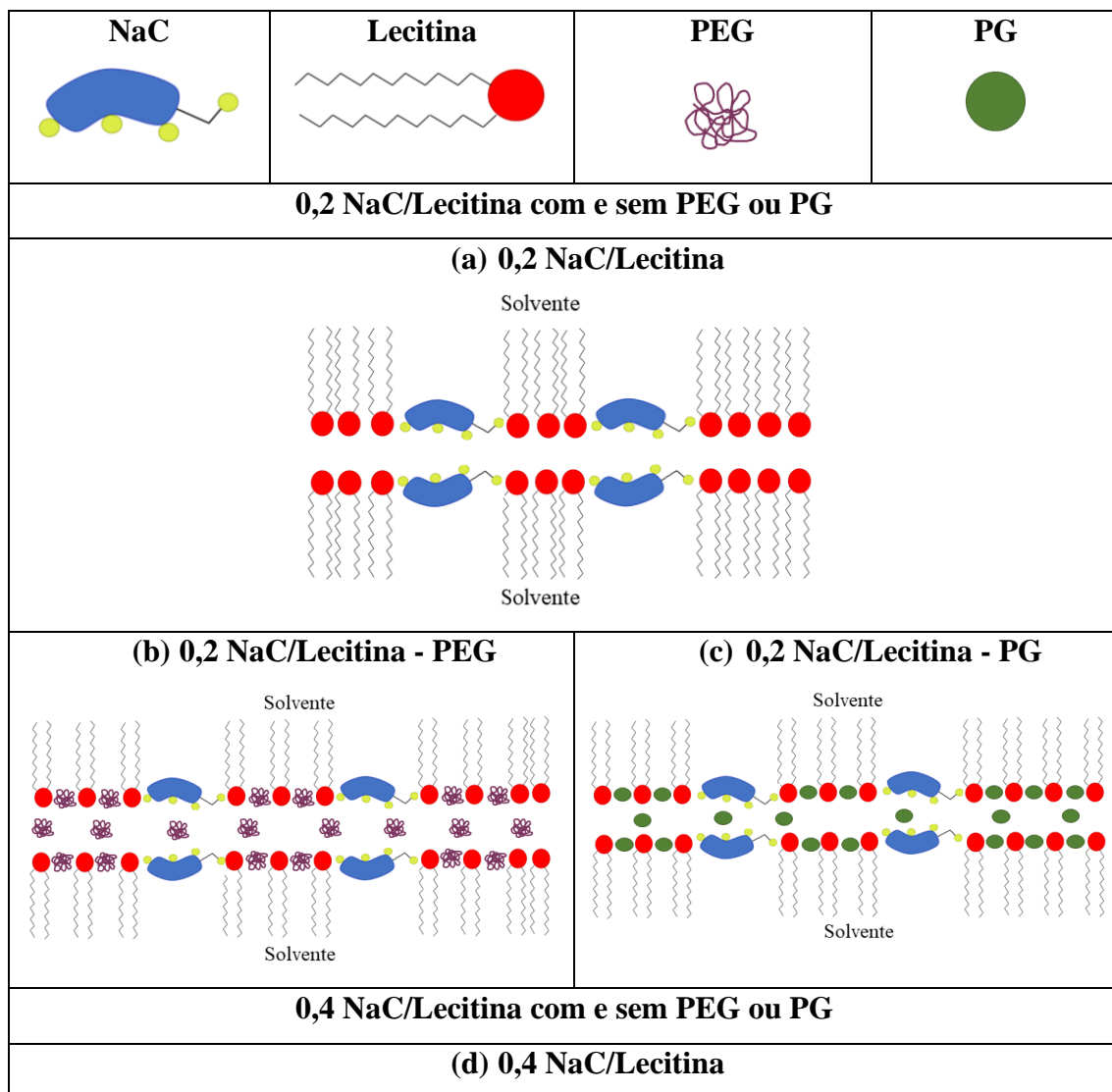
A adição de PEG promoveu uma considerável diminuição nos tamanhos dos agregados de 0,2 NaC/ Lecitina, enquanto uma nova população de partículas com tamanho de 834 nm foi formada na presença de PG. Ademais, a adição de PG ao sistema 0,4 NaC/Lecitina levou à formação de agregados de cerca 3 e 30 vezes maiores (700 e 5687 nm) que a amostra sem adição de soluto (190 nm), enquanto às cadeias de PEG não influenciaram significativamente no tamanho dos agregados formados nesta proporção. Os resultados de tamanho de partículas para os sistemas 0,8 NaC/Lecitina indicaram que a adição de PEG não influenciou no tamanho dos agregados obtidos, embora uma nova população de agregados micelares foi observada em 167 nm. Além disso, não foi possível medir o tamanho das partículas de NaC/Lecitina na presença de PG nesta proporção pela técnica de DLS.

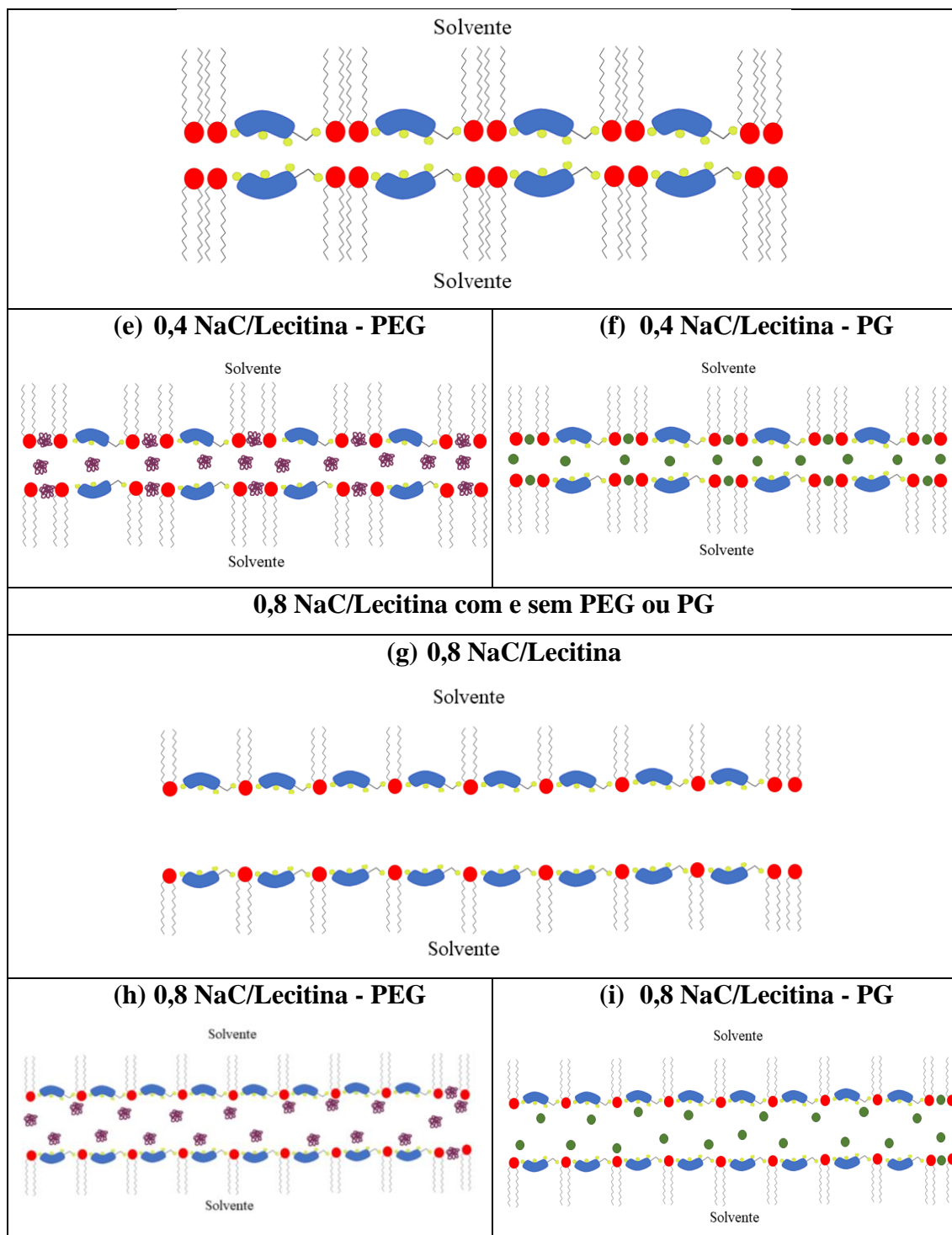
De fato, medidas de tamanho de partículas por DLS para sistemas no regime semi-diluído pode ser muito desafiador uma vez que os dados de DLS podem computar o tamanho de agregados próximos uns dos outros e então, pode ser difícil diferenciar um agregado do outro (Álvarez-Ramírez et al, 2009). Ademais, o DLS pressupõe que as partículas sejam esféricas, e ao analisar apenas os dados de DLS pode implicar em erros significativos, tendo em vista que partículas com mesmo tamanho, mas morfologias diferentes, podem mudar completamente a viscosidade e viscoelasticidade dos sistemas.

Os dados de reologia (curvas de fluxo e ensaios de dinâmica) mostram que os dados de DLS obtidos não estão correlacionados com os dados reológicos, uma vez que partículas com grandes tamanhos promovem a formação de sistemas com alta e baixa viscosidade, por exemplo, os sistemas 0,4 e 0,8 NaC/Lecitina na presença de moléculas PG (700 nm e $\eta_0 2,13 \times 10^3$ Pa s para o sistema 0,4 NaC/Lecitina-PG, e tamanho de partícula que não pode ser medido e $\eta_0 9,5$ Pa s para o sistema 0,8 NaC/Lecitina-PG).

A Figura 21 exibe um esquema baseado nos dados de DLS, reologia e SAXS de como as moléculas de PEG e PG podem interferir nos agregados formados por NaC/Lecitina nas diferentes proporções.

Figura 21: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.





A adição de PEG e PG aos sistemas 0,2 e 0,4 NaC/Lecitina (Figuras 21b, 21c, 21e e 21f) levou à formação de uma maior quantidade de micelas inversas gigantes, que foi verificado pela alta viscoelasticidade dos sistemas e por valores de alfa mais próximos de -1. Nestas proporções (0,2 e 0,4), a quantidade de lecitina é maior que a do sal de bile, e assim, os solutos polares podem interagir com duas moléculas de lecitinas que estão próximas, diminuindo a repulsão entre ambas. Dessa forma, sugerimos que as moléculas

de PG e as cadeias de PEG interagiram, primeiramente, com os grupos polares dos surfactantes, reduzindo a repulsão entre as moléculas de lecitina e dos sais de bile, e, conseqüentemente, promovendo o crescimento das estruturas cilíndricas. Após, as moléculas de PEG e PG restantes se alojariam no interior das micelas gigantes.




Na proporção 0,8 NaC/Lecitina temos uma alta quantidade de sal de bile que interage com as moléculas de lecitina, de forma que os solutos polares terão duas possibilidades: (i) interagir com a lecitina e diminuir as interações entre lecitina-NaC e/ou (ii) se alojarem em maior quantidade nessa proporção no interior das micelas (Figuras 21h e 21i). Essas duas possibilidades levam ao encurtamento das micelas gigantes e/ou à formação de estruturas lamelares, o que contribui para a baixa viscoelasticidade dos sistemas. De fato, estudos envolvendo a formação de micelas gigantes inversas de lecitina apontam que moléculas polares se ligam nos grupos polares da lecitina, promovendo transições entre diversas morfologias a depender dos componentes formados dos agregados (Tung & Raghavan, 2008; Jung, et al, 2020; Tung, Huang & Raghavan, 2006; Kim et al, 2021; Okuro et al, 2020a; Njauw et al, 2013; Park et al, 2022; Cautela et al, 2017; Lee & Lee, 2018; Zoratto et al, 2019; Okuro et al, 2018).

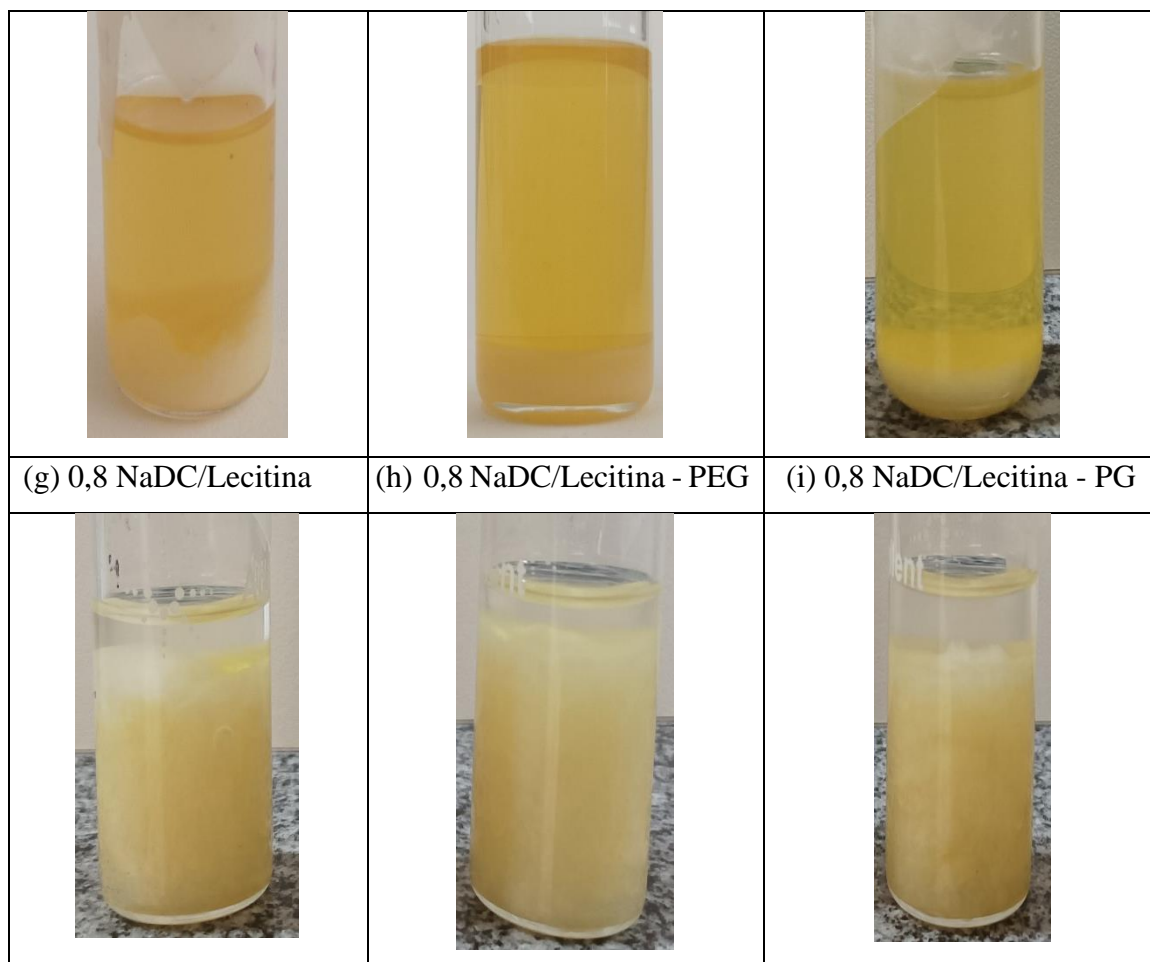
3.2. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaDC/Lecitina

A Figura 22 apresenta os sistemas formados por NaDC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG, nas três proporções estudadas. Foi observada a separação de fases, após aproximadamente 2 dias, para todos os sistemas com e sem a adição dos solutos, sendo a fase inferior a mais viscosa e esta foi utilizada nas posteriores análises.

Os sistemas na proporção de 0,2 (Figura 22a – c) apresentou menor proporção da fase inferior, devido a menor concentração de sal, e a fase superior apresentou coloração amarelada relacionada a maior presença de lecitina. Para a proporção de 0,4 (Figura 22d – f) houve um aumento da proporção da fase inferior e a fase superior apresentou maior opacidade quando comparado aos demais sistemas. Os sistemas na proporção de 0,8 (Figura 22g – i) apresentaram a fase superior transparente, indicando uma maior quantidade de solvente e a fase inferior foi predominante. Ademais, nesta proporção os sistemas com e sem adição de PEG e PG apresentaram maior viscosidade analisada visualmente (e confirmada pelos ensaios reológicos), comparando entre as proporções e sais utilizados.

Figura 22: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaDC com e sem adição de PEG e PG

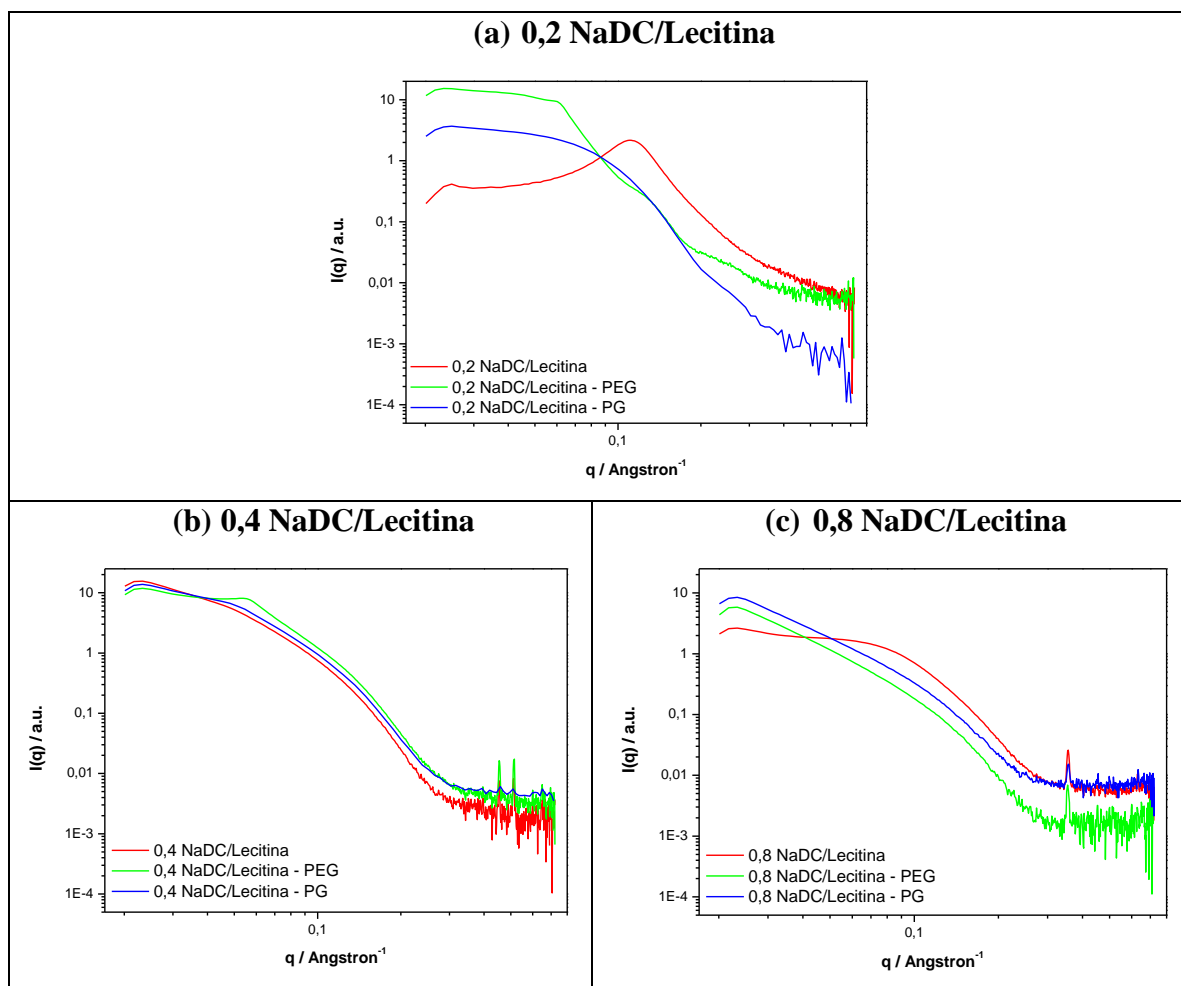
(a) 0,2 NaDC/Lecitina	(b) 0,2 NaDC/Lecitina - PEG	(c) 0,2 NaDC/Lecitina - PG
		
(d) 0,4 NaDC/Lecitina	(e) 0,4 NaDC/Lecitina - PEG	(f) 0,4 NaDC/Lecitina - PG



Fonte: Arquivo pessoal.

A Figura 23 apresenta as curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaDC/Lecitina, nas três proporções, com e sem solutos. As Tabelas 8 e 9 apresentam os valores de α , morfologia obtida, ombros, picos e as distâncias correspondentes dos agregados.

Figura 23: Curvas de SAXS obtidas para os sistemas NaDC/Lecitina sendo (-) sem solutos; (-) PEG e (-) PG.



O sistema 0,2 NaDC/Lecitina sem solutos apresentou um ombro e um pico em $0,024$ e $0,11 \text{ \AA}^{-1}$, respectivamente, correspondendo as distancias de $17,1$ e $3,8 \text{ nm}$. A inclinação (α) obtida da região linear da curva, bem como o seu formato apontam a formação de micela esférica e nanolipossoma (Tabela 8). Já as curvas desta proporção com adição de solutos apresentaram picos em $0,0225$ e $0,025 \text{ \AA}^{-1}$, respectivamente, correspondendo as distancias de 19 e $17,1 \text{ nm}$ para PEG e PG, respectivamente. Ademais, estas curvas são características de micelas gigantes, tanto pela inclinação quanto pelo formato da curva. A diferença dos valores de intensidade pode ser explicada pela diminuição da interação intermicelar, gerando uma diferença na densidade eletrônica (Bhattacharjee et al, 2012).

Tabela 8: Valores de inclinação ($q-\alpha$) e possíveis estruturas formadas para os sistemas NaDC/Lecitina.

Sistema	Inclinação $q-\alpha$ (intermediário e alto q)	Estruturas
0,2 NaDC/Lecitina	-4,76	Micela esférica e Nanolipossoma
0,2 NaDC/Lecitina - PEG	-0,56; -5,93	Micela gigante
0,2 NaDC/Lecitina - PG	-0,71; - 4,44	Micela gigante
0,4 NaDC/Lecitina	-1,85; -4,46	Micela gigante e lamela
0,4 NaDC/Lecitina - PEG	-0,88; -3,26; -5,69	Micela gigante e nanolipossoma
0,4 NaDC/Lecitina - PG	-1,17; -3,78	Micela gigante
0,8 NaDC/Lecitina	-0,79; -1,85; -4,71	Micela gigante e lamela
0,8 NaDC/Lecitina - PEG	-1,52; -2,22; -3,27	Micela gigante e lamela
0,8 NaDC/Lecitina - PG	-1,37; -2,10; -4,36	Micela gigante e lamela

Tabela 9: Valores de q para ombros e picos encontrados e seus respectivos comprimentos para os sistemas NaDC/Lecitina.

Sistema	Ombros / Picos (\AA^{-1})	Tamanho (nm)
0,2 NaDC/Lecitina	0,024 e 0,11	17,1 e 3,8
0,2 NaDC/Lecitina - PEG	0,0225	19,0
0,2 NaDC/Lecitina - PG	0,025	17,1
0,4 NaDC/Lecitina	0,022, 0,45 e 0,51	19,2, 0,9 e 0,8
0,4 NaDC/Lecitina - PEG	0,0222, 0,055, 0,45 e 0,51	19,2; 7,78; 0,9 e 0,8
0,4 NaDC/Lecitina - PG	0,0227 e 0,49	18,8 e 8,73
0,8 NaDC/Lecitina	0,0232 e 0,35	18,4 e 1,2
0,8 NaDC/Lecitina - PEG	0,022 e 0,35	19,4 e 1,2
0,8 NaDC/Lecitina - PG	0,0227 e 0,035	18,8 e 1,2

Para os sistemas 0,4 NaDC/Lecitina foram obtidos valores de α iguais a -1,85, -0,88 e -1,17 para os sistemas sem adição de soluto, com PEG e com PG, respectivamente,

indicando que a adição de solutos promoveu a formação de micelas cilíndricas. Ademais, para o sistema sem solutos foram encontrados picos de difração em 0,022, 0,45 e 0,51 \AA^{-1} correspondendo as distancias de 19,2; 0,9 e 0,8 nm, respectivamente. Os sistemas contendo PEG apresentou picos de difração em 0,0222, 0,055, 0,45 e 0,51 \AA^{-1} correspondendo as distancias de 19,2; 7,78; 0,9 e 0,8 nm. Para o sistema contendo PG foram observados os picos em 0,0227 e 0,49 \AA^{-1} correspondendo as distâncias de 18,8 e 8,73 nm, respectivamente. Os sistemas 0,8 NaDC/Lecitina com e sem a adição dos solutos apresentaram α com valores entre -0,79 e - 1,52, sugerindo a formação de micelas gigantes. Ademais valores de α próximos a -2 foram observados, indicando também a formação de estruturas lamelares. Njauw *et. al.* (2013) estudou a formação de micelas gigantes inversas de lecitina e sais/ácidos de bile em solvente apolar, e verificou por medidas de SAXS que o raio médio das micelas foi aproximadamente 1,3 nm e o comprimento de persistência l_p ficou na faixa de 20 a 35 nm, o que está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho.

A Figura 24 apresenta um exemplo de gráfico de curva de fluxo obtido para o sistema 0,4 NaDC/Lecitina com adição de PG. As curvas de fluxo mostram os fenômenos de *shear thinning* e *shear thickening*, indicando que o fluido é não-Newtoniano, como esperado (Barnes, Hutton & Walters, 1993). A Tabela 10 apresenta os valores obtidos de viscosidade no platô (η_0) para os sistemas formados por NaDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos PEG e PG.

Figura 24: Curva de fluxo obtida para o sistema 0,4 NaDC/Lecitina – PG.

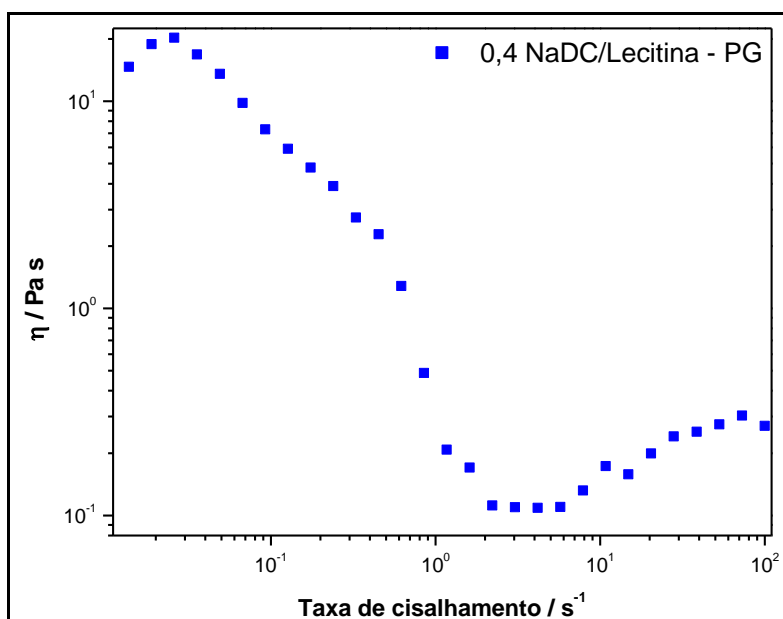


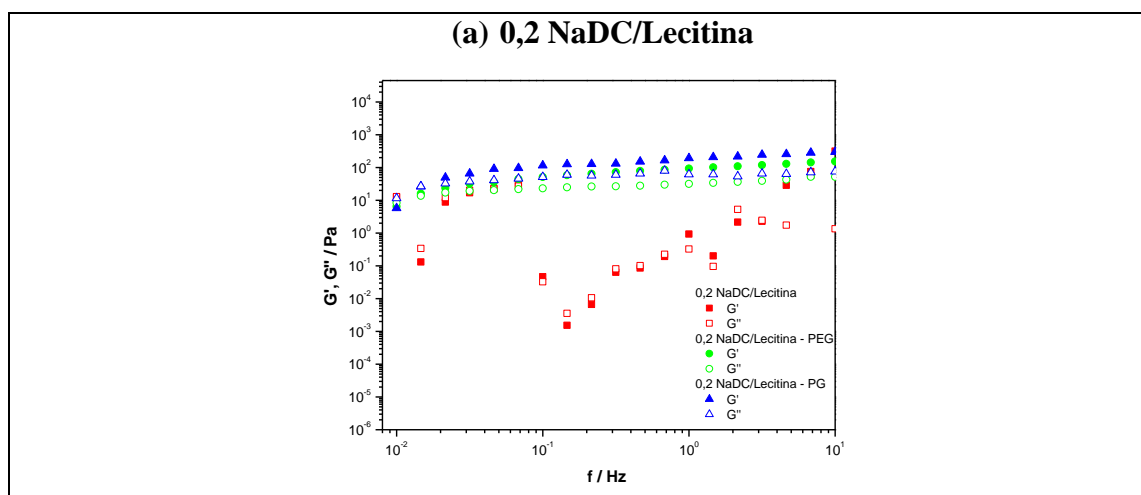
Tabela 10: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.

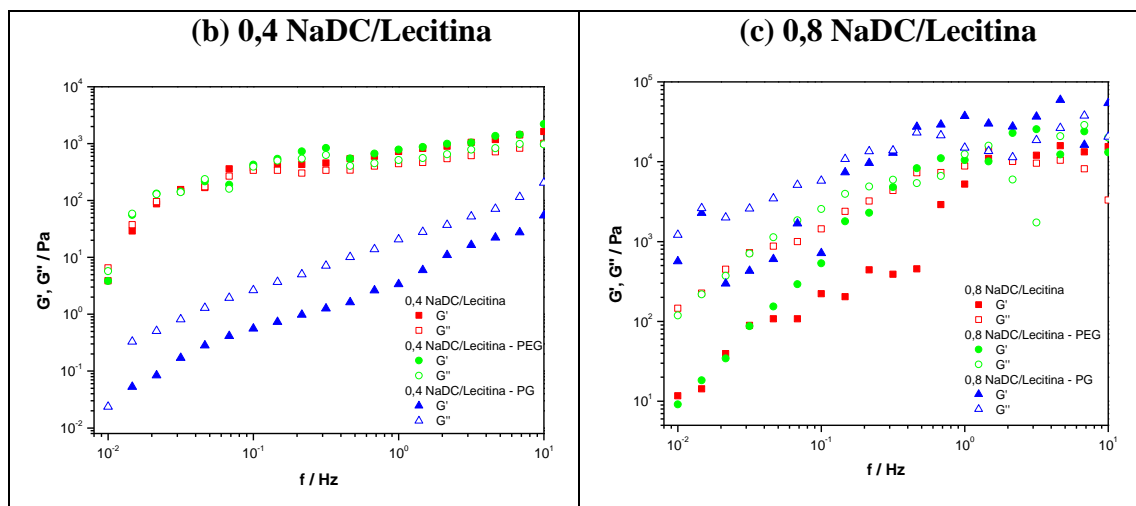
NaDC/Lecitina			
Sistemas	NaDC/Lecitina	PEG	PG
	η_0 (Pa s)	η_0 (Pa s)	η_0 (Pa s)
0,2	$6,3 \cdot 10^1$	$3,6 \cdot 10^2$	$5,2 \cdot 10^1$
0,4	$4,5 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^1$	9,10
0.8	$2,2 \cdot 10^2$	$2,07 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^5$

A adição de PEG ao sistema 0,2 NaDC/Lecitina promoveu um aumento considerável no valor de η_0 , enquanto que a adição PG promoveu uma pequena diminuição no valor de η_0 . No sistema de 0,4 NaDC/Lecitina, a adição de solutos levou à uma diminuição da viscosidade no platô, principalmente para o sistema na presença de moléculas de PG, sendo esses os sistemas mais fluidos obtidos. Entretanto, a adição de PEG e PG aos sistemas 0,8 NaDC/Lecitina levou à formação de sistemas muito viscosos, com viscosidade no platô de até 1000 vezes maior para esses sistemas.

A Figura 25 apresenta os dados obtidos para determinar a viscoelasticidade (os ensaios dinâmicos) das amostras de NaDC/Lecitina com e sem adição de solutos.

Figura 25: Ensaio dinâmico dos sistemas NaDC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' .





Foi observado que para a proporção 0,2 NaDC/Lecitina, o sistema sem adição de solutos apresentou grande oscilação entre os valores de G' e G'' , apontando um sistema com baixa viscoelasticidade. A adição dos solutos promoveu uma estruturação dos agregados sendo observada através da formação de um platô até frequências elevadas e dos elevados valores de G_0 (Tabela 10). Para ambos os solutos, os valores de G' foram superiores aos valores de G'' , indicando um comportamento viscoelástico das amostras com PEG e PG (Okuro et al, 2020a).

Para a proporção de 0,4 NaDC/Lecitina, os sistemas sem solutos e com PEG apresentaram comportamentos semelhantes, com G'' maior em baixas frequências e G' se tornando maior com o aumento da frequência. A adição de PEG diminuiu o tempo de relaxação do sistema de 31,5 s para 14,5 s (Tabela 11). Já o sistema com PG apresentou G'' maior em praticamente todo intervalo de frequência estudado, indicando caráter majoritariamente viscoso (Okuro et al, 2020a), houve também uma diminuição do tempo de relaxação e uma diminuição drástica no grau de entrelaçamento.

Nos sistemas de 0,8 NaDC/Lecitina, o sistema sem adição de solutos apresentou o módulo de G'' maior do que o módulo de G' em baixas frequências e G' maior do que G'' em altas frequências, indicando a formação de sistemas viscoelásticos e entrelaçados (Okuro et al, 2020a). Os sistemas com adição de PEG e PG apresentaram comportamentos semelhantes ao do sistema sem a adição do soluto, entretanto a adição dos solutos promoveu um aumento nos entrelaçamentos dos agregados, bem como o aumento do tempo de relaxação.

A Tabela 11 apresenta os valores de tempo de relaxação e módulo de obtidos experimentalmente para os sistemas NaDC/Lecitina.

Tabela 11: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaDC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.

Sistema	G_0 (Pa)	τ_R (s)
0,2 NaDC/Lecitina	---	---
0,2 NaDC/Lecitina - PEG	$1,4 \times 10^2$	68,5
0,2 NaDC/Lecitina - PG	$2,9 \times 10^2$	68,5
0,4 NaDC/Lecitina	$4,8 \times 10^3$	31,5
0,4 NaDC/Lecitina - PEG	9×10^3	14,5
0,4 NaDC/Lecitina - PG	$2,0 \times 10^1$	0,1
0,8 NaDC/Lecitina	$9,7 \times 10^3$	0,7
0,8 NaDC/Lecitina - PEG	$2,8 \times 10^4$	3,2
0,8 NaDC/Lecitina - PG	$3,6 \times 10^4$	2,1

* Dados com a marcação (---) indicam que não foi possível determinar o valor experimentalmente.

Os dados mostram que os sistemas formados por 0,2 NaDC/Lecitina na presença dos solutos apresentaram o maior tempo de relaxação quando comparado às demais proporções. Ademais, a adição de PG ao sistema 0,4 NaDC/Lecitina levou a uma diminuição significativa no valor de τ_R e não foi observado a formação de um platô, indicando que o soluto monomérico diminuiu a viscoelasticidade dos sistemas. Entretanto, os sistemas 0,8 NaDC/Lecitina apresentam viscoelasticidade pronunciada, sendo que a adição de PG promoveu um maior entrelaçamento entre as micelas. As razões entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas com a adição dos solutos ($G_{0,1}$ e $\tau_{R,1}$) e sem adição dos solutos ($G_{0,0}$ e $\tau_{R,0}$) nas diferentes proporções NaDC/Lecitina (Tabela 12) podem ser um indicativo dos efeitos da adição dos solutos sobre a viscoelasticidade dos sistemas.

Tabela 12: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaDC/Lecitina com e sem solutos.

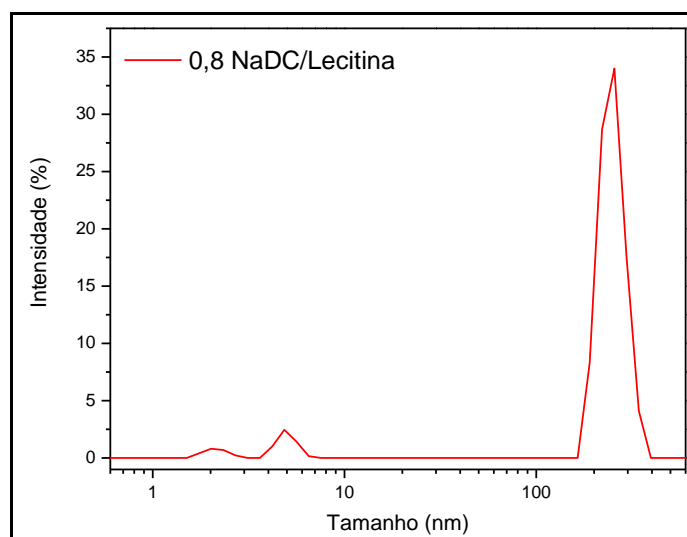
NaDC/Lecitina	PEG		PG	
	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$
0,2	--	--	--	--
0,4	1,9	$4,6 \times 10^{-1}$	$4,2 \times 10^{-3}$	$3,2 \times 10^{-3}$

0,8	2,9	4,6	3,7	3
-----	-----	-----	-----	---

Os resultados mostram que para os sistemas de 0,8 NaDC/Lecitina, a adição de solutos promove um aumento da viscoelasticidade dos sistemas, principalmente a adição do soluto monomérico, enquanto para os sistemas 0,4 NaDC/Lecitina, a adição dos solutos leva à obtenção de sistemas mais fluidos, principalmente para o sistema contendo moléculas de PG. Este resultando é importante, tendo em vista que os sistemas 0,8 NaDC/Lecitina sem adição de solutos é o mais viscoelástico entre as proporções estudadas, como reportado por Raghavan *et. al.* (Tung, Huang & Raghavan, 2006). Entretanto, a adição dos solutos PEG e PG promove mudanças nas interações estabelecidas entre o sal de bile e a lecitina, ocasionando sistemas pouco viscoelásticos. Entretanto, a adição desses mesmos solutos na proporção 0,8 NaDC/Lecitina promove sistemas altamente viscoelásticos, o que não foi observado no trabalho de Raghavan *et. al.* (Tung, Huang & Raghavan, 2006).

A Figura 26 apresenta um gráfico típico de distribuição de tamanhos dos agregados formados por NaDC/Lecitina obtido através das análises de DLS (0,8 NaDC/Lecitina). É possível observar a formação de três populações de agregados com cerca de 2,13 nm, 5 nm e 253 nm.

Figura 26: Tamanho de partículas do sistema 0,8 NaDC/Lecitina.



Na Tabela 13 estão os tamanhos dos agregados e a respectiva porcentagem de cada população para os sistemas formados por NaDC/Lecitina com e sem a adição dos solutos.

Tabela 13: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

Sistema	1 – 100 nm / %	101 – 650 nm	> 651 nm
Sal de bile/ lecitina 0,2 (mol/mol)			
NaDC/Lecitina	11 / 50,7 ^(c) ; 57,9 / 28 ^(c)	170 / 21,3 ^(b)	-
PEG	8 / 19,1 ^(c) ; 27 / 5,7 ^(c)	-	1700 / 45,5 ^(d) ; 5500 / 29,6 ^(e)
PG	9 / 6,02 ^(c)	440 / 13,2 ^(a)	1825 / 47,1 ^(d) ; 5650 / 33,7 ^(e)
Sal de bile/ lecitina 0,4 (mol/mol)			
NaDC/Lecitina	7,50 / 100 ^(e*)	-	-
PEG	2,40 / 2,9 ^(e*) ; 6,60 / 20 ^(e*) ; 35,7 / 77,1 ^(d*)	-	-
PG	60,50 / 5,5 ^(c*)	295 / 41,8 ^(b*) ; 418 / 52,7 ^(a*)	-
Sal de bile/ lecitina 0,8 (mol/mol)			
NaDC/Lecitina	2,13 / 2,1 ^(a**) ; 5 / 6,9 ^(a**)	253 / 91 ^(b**)	-
PEG	-	184 / 100 ^(b**)	-
PG	Não foi possível medir por DLS		

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Médias com o símbolo são relativas à proporção de 0,4 e médias com ** são relativas à proporção de 0,8.*

Os resultados mostraram a formação de agregados de NaDC/Lecitina com diferentes tamanhos, os quais são dependentes da proporção entre os surfactantes e a adição dos solutos polares. A adição das cadeias de PEG e moléculas de PG levaram ao aumento do tamanho dos agregados micelares nas proporções 0,2 e 0,4 de NaDC/Lecitina, principalmente para as micelas na presença do soluto monomérico. Na proporção de 0,2 o aumento do tamanho dos agregados pode estar associado com o aumento da η_0 , visto que o aumento dos valores de viscosidade por parte de agregados com tamanhos elevados

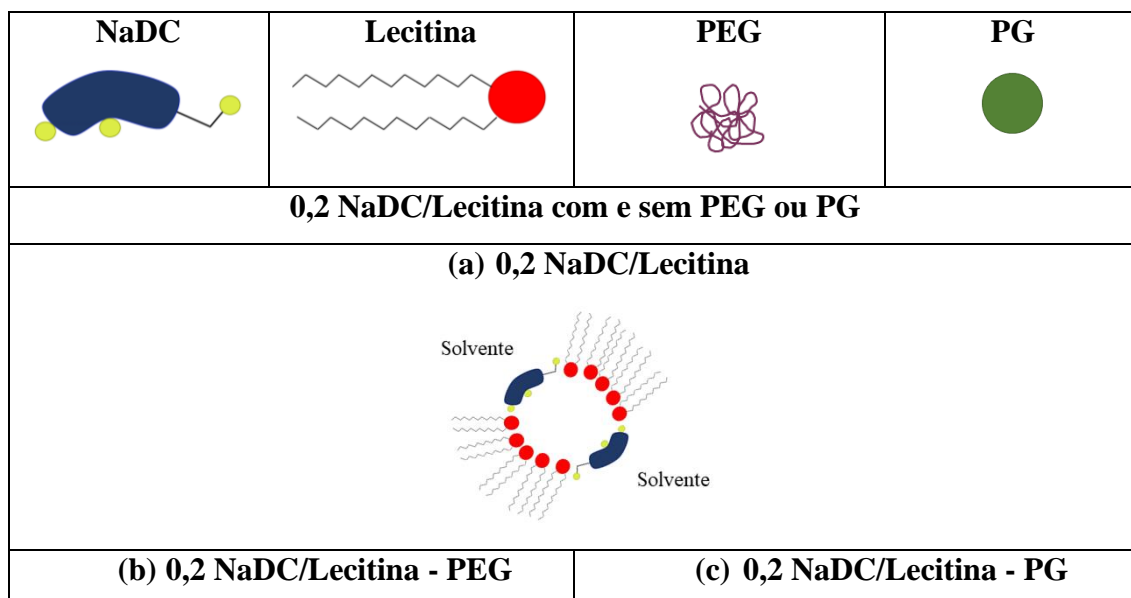
pode estar relacionado com uma maior resistência ao fluxo ou a forma como estas partículas estão arrançadas, havendo uma maior interação entre elas (Cates e Candau, 1990). Enquanto os agregados formados por 0,8 NaDC/Lecitina na presença de PEG tiveram os seus tamanhos diminuídos em relação ao sistema sem a adição do soluto.

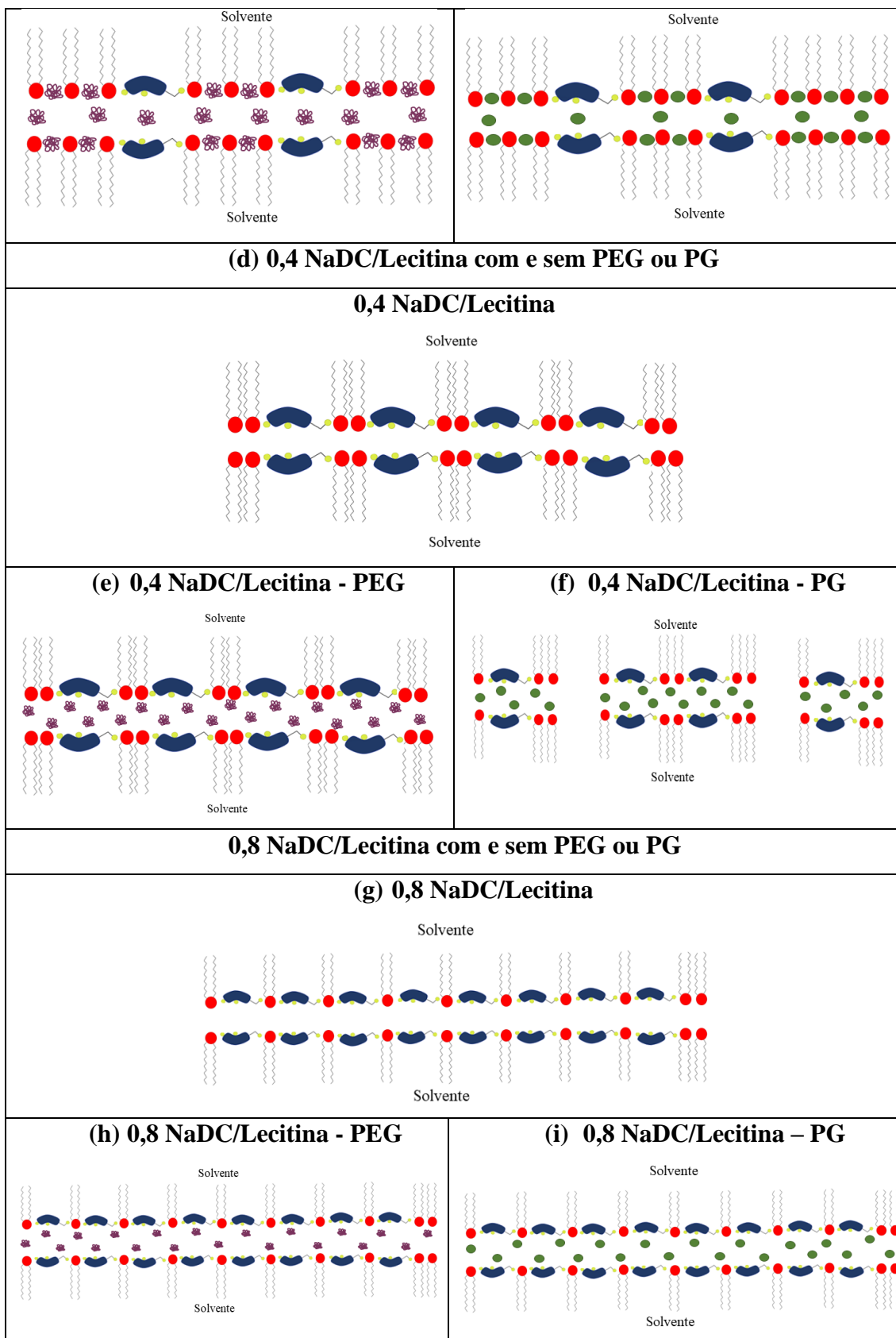
A adição de PG na proporção de 0,2 formou agregados com tamanhos superiores a 1825 nm, entretanto os ensaios reológicos apontaram uma diminuição no valor de η , podendo indicar que este soluto interage com os surfactantes promovendo menos pontos de entrelaçamentos entre elas, e, assim, diminuindo a viscosidade do sistema.

É importante pontuar que os pequenos agregados de 7,5 nm formados na proporção 0,4 NaDC/Lecitina são possivelmente micelas esféricas inversas, e, que a adição de PG modificou significativamente o tamanho desses agregados. Este resultado mostrou que a adição de quantidades diminutas de solutos polares é capaz de modular o tamanho e a morfologia dos agregados micelares de NaDC/Lecitina devido às interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio estabelecidas entre os surfactantes e os solutos polares.

Com base nos dados de reologia e SAXS, a Figura 27 ilustra um possível esquema de como os solutos polares influenciam a formação dos agregados de NaDC/Lecitina nas diferentes proporções.

Figura 27: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaDC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.





A baixa quantidade de moléculas do sal de bile na proporção 0,2 NaDC/Lecitina (Figura 27a) não é suficiente para formar micelas gigantes, e assim, o sistema é formado majoritariamente por micelas esféricas e nanolipossomas. De fato, Raghavan e colaboradores verificam que a melhor proporção para formação de micelas gigantes de NaDC/lecitina é 0,4 (Njauw et al, 2013; Tung, Huang & Raghavan, 2006). A adição dos solutos PEG e PG ao sistema 0,2 NaDC/Lecitina (Figuras 27b e 27c) promoveram a formação de micelas gigantes como observado pela alta viscoelasticidade conferida aos sistemas e por valores de α próximos de -1, típico de agregados cilíndricos. Assim, os solutos polares interagem preferencialmente com a cabeça polar da lecitina via ligações de hidrogênio, aumentando assim essa área, o que implica na transição de micelas esféricas/nanolipossomas para micelas cilíndricas, como observado em outros trabalhos onde íons e moléculas polares formaram micelas gigantes com lecitina em solvente apolar (Tung & Raghavan, 2008; Jung, et al, 2020; Tung, Huang & Raghavan, 2006; Kim et al, 2021; Okuro et al, 2020a; Njauw et al, 2013; Park et al, 2022; Cautela et al, 2017; Lee & Lee, 2018; Zoratto et al, 2019; Okuro et al, 2018). Ou seja, as moléculas de PEG e PG atuam de forma semelhante às moléculas de NaDC que nestes sistemas estão em baixa quantidade no meio.

Para as demais proporções de NaDC/Lecitina (0,4 e 0,8) verificou-se a formação de micelas gigantes e lamelas com e sem adição de PEG e PG. A adição de PEG (Figuras 27e e 27h) nestas proporções favoreceu a formação de micelas com tempos de relaxação maiores (dados reológicos), sugerindo que as cadeias de PEG interagem preferencialmente com as pontas das micelas gigantes diminuindo a energia nessas regiões e assim, diminuindo a frequência de quebra e recombinação das micelas (tempos longos) (Cheng et al, 2014). As moléculas de PG afetam de forma diferente as micelas nessas proporções. Para o sistema 0,4 NaDC/Lecitina (Figura 27f), as moléculas de PG promovem a quebra das micelas gigantes em micelas gigantes mais curtas, diminuindo a viscoelasticidade do sistema, como visto em outros trabalhos (Francisco et al, 2010; Francisco et al, 2012). Para o sistema com maior conteúdo de NaDC (Figura 27i), as moléculas de PG afetaram tanto o tempo de relaxação das cadeias quanto o módulo no platô, indicando que nesta proporção o soluto promove a formação de micelas gigantes longas e entrelaçadas (Francisco et al, 2010; Francisco et al, 2012). Ademais, os dados de SAXS apontaram que as micelas na presença de PG apresentam comprimento de persistência menores e, portanto, apresentam estruturas mais flexíveis (Njauw et al, 2013; Cautela et al, 2017).

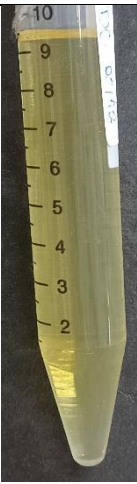
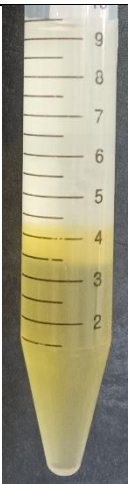
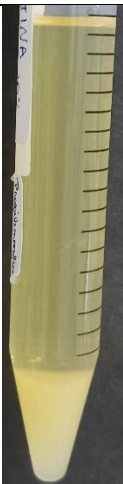
3.3. Influência dos solutos polares PEG e PG na formação dos agregados de NaTDC/Lecitina

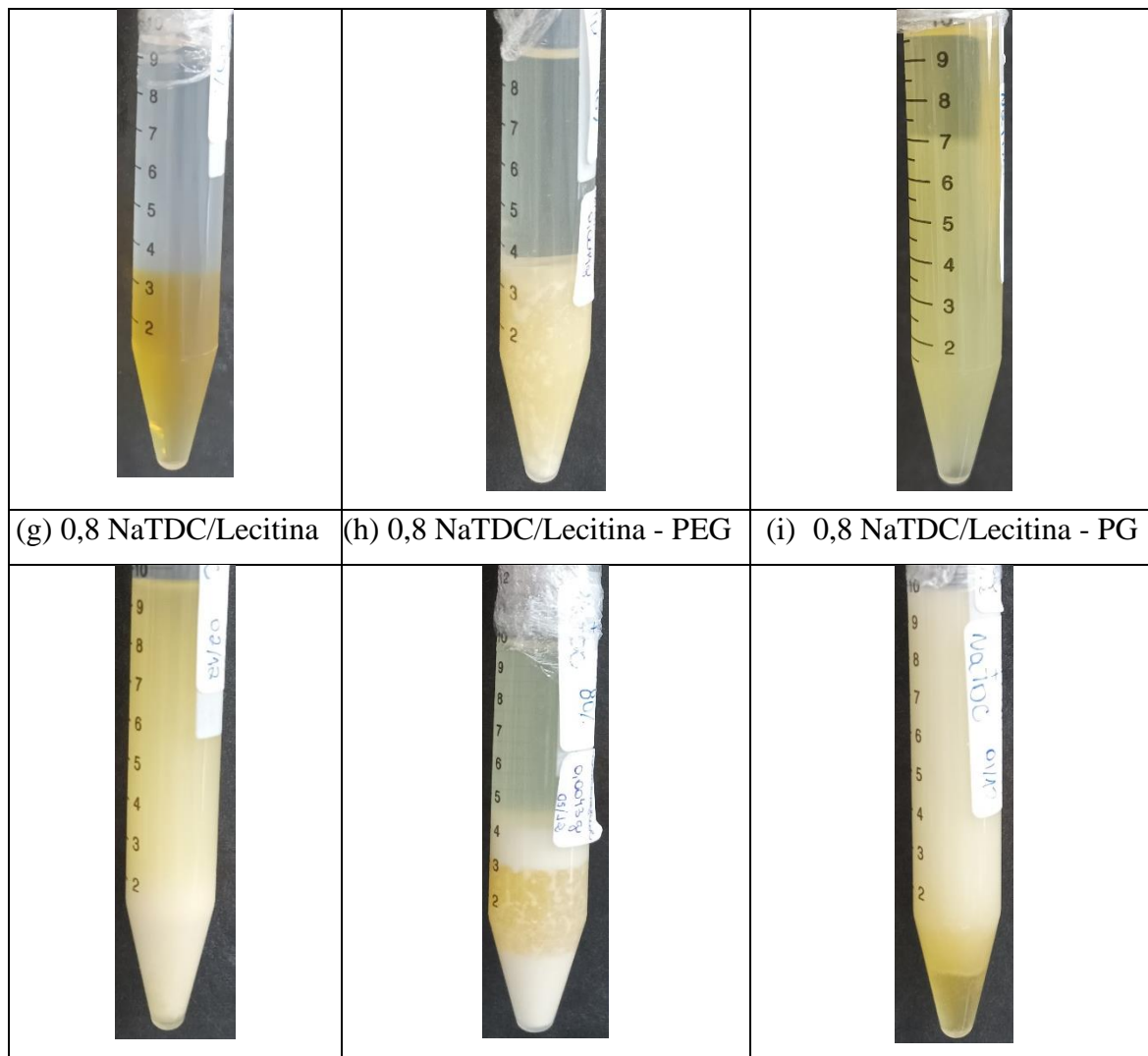
A Figura 28 apresenta os sistemas de NaTDC/lecitina, nas três proporções utilizadas na presença dos solutos.

Para os sistemas de NaTDC foi observada a separação de fases para todas as amostras, com exceção para o sistema de 0,2 NaTDC/Lecitina sem adição de solutos (Figura 28a). Foi observado que, para os sistemas de 0,4 NaTDC/Lecitina e 0,8 NaTDC/Lecitina (Figura 28d – i) a fase inferior se mostrava mais viscosa do que a fase superior, para as posteriores análises foi utilizada apenas a fase mais viscosa.

A adição de PEG aos sistemas promoveu a formação de uma fase superior mais translúcida, podendo ser a sua maior composição o solvente utilizado (Figura 28b, 28e e 28h). Ao passo que para os sistemas contendo PG nas proporções de 0,2 e 0,4 (Figura 28c e 28f) a fase superior apresentou coloração amarelada e translúcida, podendo estar relacionada com a presença de lecitina também nessa fase. Para o sistema contendo PG na proporção de 0,8 (Figura 28i), a fase superior apresentou uma coloração branca, estando relacionada com a maior concentração do sal.

Figura 28: Sistemas obtidos a partir de diferentes proporções de Lecitina e NaTDC com e sem adição de PEG e PG.

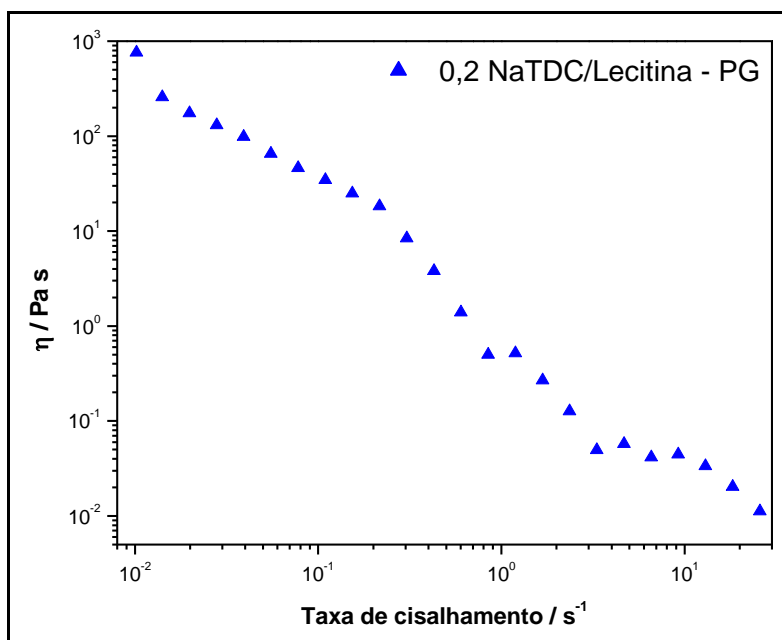
(a) 0,2 NaTDC/Lecitina	(b) 0,2 NaTDC/Lecitina - PEG	(c) 0,2 NaTDC/Lecitina - PG
		
(d) 0,4 NaTDC/Lecitina	(e) 0,4 NaTDC/Lecitina - PEG	(f) 0,4 NaTDC/Lecitina - PG



Fonte: Arquivo pessoal.

A Figura 29 apresenta um exemplo de gráfico de curva de fluxo obtido para o sistema 0,2 NaTDC/Lecitina com adição de PG. Através do gráfico é possível observar o fenômeno de *shear thinning*, sendo caracterizado pela diminuição da viscosidade conforme há o aumento da taxa de cisalhamento (Macosko, 1994). Este fenômeno está relacionado com a reorganização das partículas em resposta à força de cisalhamento. Conforme o sistema é submetido a uma força de cisalhamento as partículas se alinham ou se separam, promovendo uma diminuição da viscosidade (Barnes, Hutton & Walters, 1993).

Figura 29: Curva de fluxo obtida para o sistema 0,2 NaTDC/Lecitina – PG.



A Tabela 14 apresenta os valores obtidos de viscosidade no platô (η_0) para os sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.

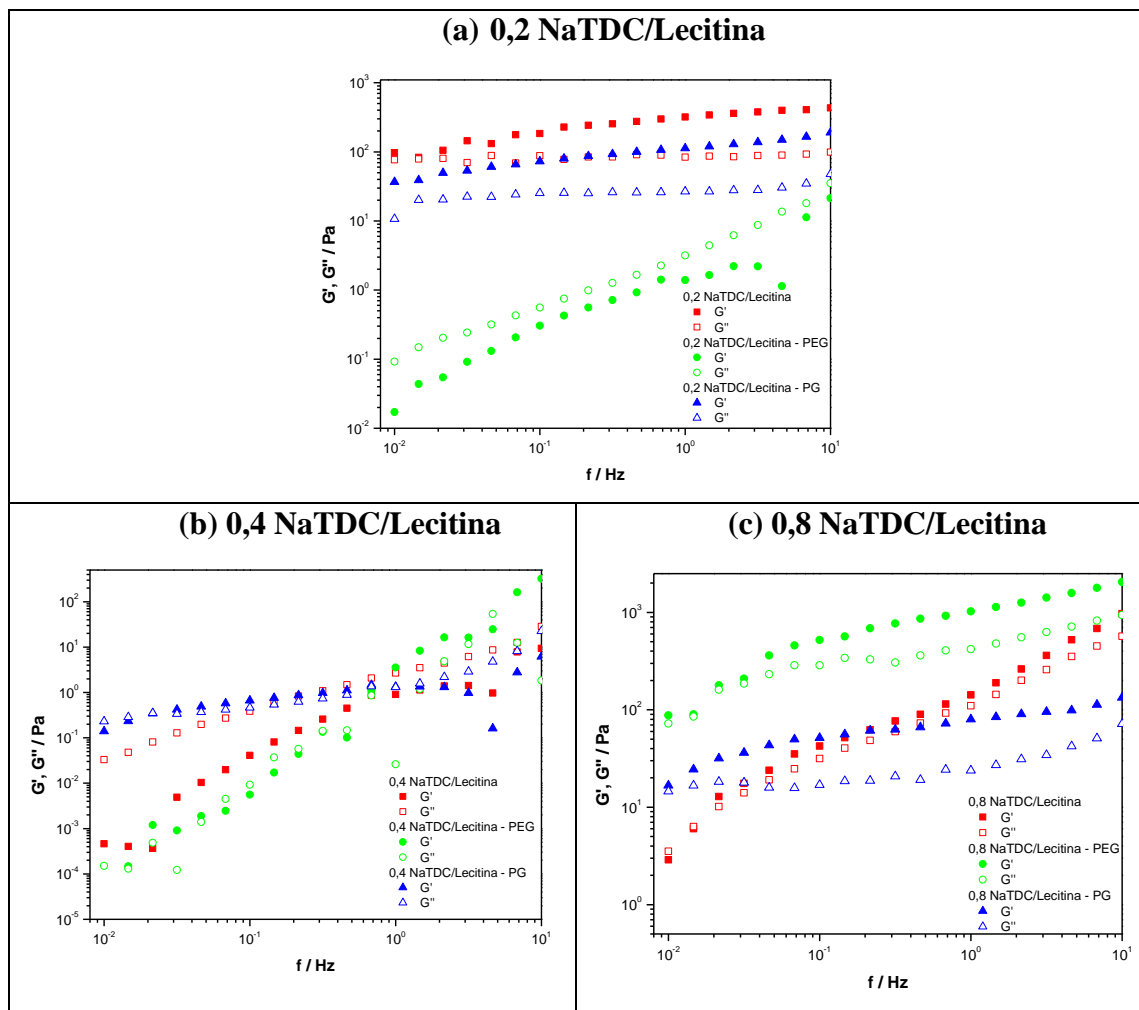
Tabela 14: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para os sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição de solutos.

NaTDC/Lecitina			
Sistemas	NaTDC/Lecitina η_0 (Pa s)	PEG η_0 (Pa s)	PG η_0 (Pa s)
0,2	$8,4 \times 10^2$	$1,1 \times 10^1$	$7,6 \times 10^2$
0,4	2,29	2×10^{-2}	$1,1 \times 10^2$
0,8	$3,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$

Para a proporção de 0,2 NaTDC/Lecitina, a adição de PEG e PG diminuiu o valor de η_0 , principalmente a adição de PEG. Na proporção de 0,4 a adição de PEG promoveu uma diminuição acentuada nos valores de η_0 , enquanto a adição de PG promoveu um aumento no valor de η_0 . A adição de PEG no sistema de 0,8 promoveu um aumento significativo no valor de η_0 . A adição de PG promoveu uma diminuição no valor de η_0 .

A Figura 30 apresenta os dados obtidos para os ensaios dinâmicos para os sistemas NaTDC/Lecitina com e sem adição de solutos.

Figura 30: Ensaio dinâmico dos sistemas NaTDC/Lecitina sendo (■) sem solutos; (●) PEG e (▲) PG. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' .



Os dados apontaram que os sistemas 0,2 NaTDC/Lecitina sem solutos e com PG apresentaram comportamentos semelhantes, possuindo o módulo de G' maior que o módulo de G'' para a maior faixa de frequência estudada, indicando a formação de sistemas viscoelásticos (Jung et al, 2020). Entretanto, o sistema contendo PEG apresentou o módulo de G'' maior que o módulo de G' para ampla faixa de frequência, indicando um sistema com comportamento predominantemente viscoso (Okuro et al, 2020a).

Para a proporção de 0,4 NaTDC/Lecitina foi observado que o sistema sem solutos apresenta o módulo G'' maior que G' para todo o ensaio realizado, indicando comportamento viscoso. A adição dos solutos aumentou o tempo de relaxação quando comparado ao sistema sem solutos (Tabela 16), indicando que as estruturas formadas quebram e se recombinaem em maiores intervalos de tempo. O sistema com adição de PEG apresenta curva característica de sistemas com baixa viscoelasticidade. O sistema contendo PG apresentou o módulo G'' maior em baixas frequências e G' maior em frequências intermediárias, nesta faixa os módulos adquirem valores muito próximos. Ao aumentar a frequência G'' torna a ser maior, isso indica que as estruturas formadas são alongadas e possuem mais de um tempo de relaxação (Barnes, Hutton & Walters, 1993).

Todos os sistemas na proporção de 0,8 NaTDC/Lecitina apresentaram G' maior do que G'' na maioria dos valores de frequência estudados, como observado por Raghavan *et. al.* (Tung, Huang & Raghavan, 2006). Indicando que possuem comportamento predominantemente viscoelástico. Ao contrário das demais proporções para este sal, o PEG apresentou os maiores valores para ambos os módulos, indicando que houve um aumento da viscoelasticidade dos sistemas. Além disso, a adição de PEG promoveu um aumento do entrelaçamento dos agregados, enquanto a adição de PG diminuiu o entrelaçamento dos agregados.

A Tabela 15 apresenta os valores de tempo de relaxação e módulo de platô obtidos através dos dados experimentais para os sistemas NaTDC/Lecitina.

Tabela 15: Valores de G_0 e τ_R obtidos experimentalmente para os sistemas NaTDC/Lecitina com e sem os solutos PEG e PG.

Sistema	G_0 (Pa)	τ_R (s)
0,2 NaTDC/Lecitina	4×10^2	100
0,2 NaTDC/Lecitina - PEG	2,2	102
0,2 NaTDC/Lecitina - PG	$1,3 \times 10^2$	102
0,4 NaTDC/Lecitina	1,6	0,1
0,4 NaTDC/Lecitina - PEG	3,3	1,4
0,4 NaTDC/Lecitina - PG	1,7	47,6
0,8 NaTDC/Lecitina	7×10^2	47,6
0,8 NaTDC/Lecitina - PEG	2×10^3	71,4
0,8 NaTDC/Lecitina - PG	1×10^2	100

* Dados com a marcação (---) indicam que não foi possível determinar o valor experimentalmente.

As razões entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas com a adição dos solutos ($G_{0,1}$ e $\tau_{R,1}$) e sem adição dos solutos ($G_{0,0}$ e $\tau_{R,0}$) nas diferentes proporções NaTDC/Lecitina (Tabela 16) podem ser um indicativo dos efeitos da adição dos solutos sobre a viscoelasticidade dos sistemas.

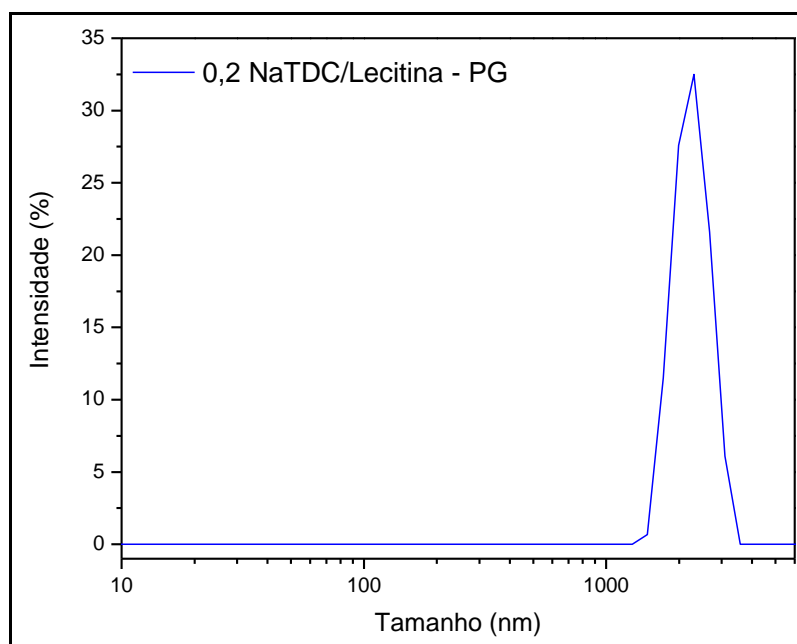
Tabela 16: Razão entre os valores de G_0 e as razões entre os valores de τ_R dos sistemas de NaTDC/Lecitina com e sem solutos.

NaTDC/Lecitina	PEG		PG	
	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$	$G_{0,1}/G_{0,0}$	$\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$
0,2	$5,5 \times 10^{-3}$	1	$3,3 \times 10^{-1}$	1
0,4	2	14	1	$4,7 \times 10^2$
0,8	2,9	1,5	$1,4 \times 10^{-1}$	2,1

Os resultados da Tabela 16 apontam que os solutos afetam diferentemente a dinâmica de quebra e recombinação das micelas, bem como o grau de entrelaçamentos entre elas. Por exemplo, para os sistemas 0,4 NaTDC/Lecitina, a adição dos solutos afeta de forma semelhante os valores de G_0 e τ_R , isto é, os entrelaçamentos entre as micelas (altos valores de G_0) para estes sistemas são fundamentais para conferir viscoelasticidade aos sistemas. Entretanto, para os sistemas formados por 0,8 NaTDC/Lecitina, são os tempos de quebra e recombinação das micelas (valores altos) os responsáveis por promover pronunciada viscoelasticidade aos sistemas.

A Figura 31 apresenta um exemplo de gráfico típico de distribuição de tamanhos dos agregados formado obtido por medidas de DLS (0,2 NaTDC/Lecitina com adição de PG). É possível observar a formação de apenas uma população de agregados com cerca de 2230 nm.

Figura 31: Distribuição de tamanho de partículas para o sistema



A Tabela 17 dispõe os tamanhos dos agregados obtidos por DLS, bem como a porcentagem de cada população, para os sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções com e sem a adição de solutos.

Tabela 17: Tamanhos obtidos por DLS para os agregados formados nos sistemas formados por NaTDC/Lecitina nas três proporções utilizadas e com a adição dos solutos, acompanhados da intensidade de aparecimento em %.

Sistema	1 – 100 nm / %	101 – 650 nm / %	> 651 nm / %
Sal de bile/ lecitina 0,2 (mol/mol)			
NaTDC/Lecitina	0,6 / 7,6 ^(c)	500 / 31,4 ^(a)	5500 / 60,9 ^(d)
PEG	1,5 / 2,3 ^(c) 6,5 / 4,1 ^(c) 11,7 / 2,6 ^(c) 38 / 35 ^(c)	106 / 30,5 ^(c) ; 220 / 25,4 ^(b)	-
PG	-	-	2230 nm/100% ^(e)
Sal de bile / lecitina 0,4 (mol/mol)			
NaTDC/Lecitina	10,1 / 10,5 ^(f*) 15,7 / 45,4 ^(f*)	142 / 44,1 ^(e*)	-
PEG	88 / 5 ^(e*)	390 / 45,3 ^(d*)	1100 / 41,2 ^(b*, c*) ;

			5533 / 5,5 ^(a*)
PG	66 / 4,6 ^(e*)	-	1080 / 46,4 ^(c*) ; 1700 / 48,7 ^(b*)
Sal de bile/ lecitina 0,8 (mol/mol)			
NaTDC/Lecitina	17 / 4,8 ^(c**) ; 70,8 / 35,2 ^(b**, c**)	444 / 15,8 ^(a**)	2028 / 30,9 ^(d**) ; 5534 / 13,2 ^(e**)
PEG	35,7 / 6,9 ^(c**)	104,8 / 58,3 ^(b**, c**) ; 193 / 32 ^(b**)	5666 / 2,8 ^(e**)
PG	51,1 / 14,8 ^(c**)	340 / 66,8 ^(a**)	1944 / 18,5 ^(d**)

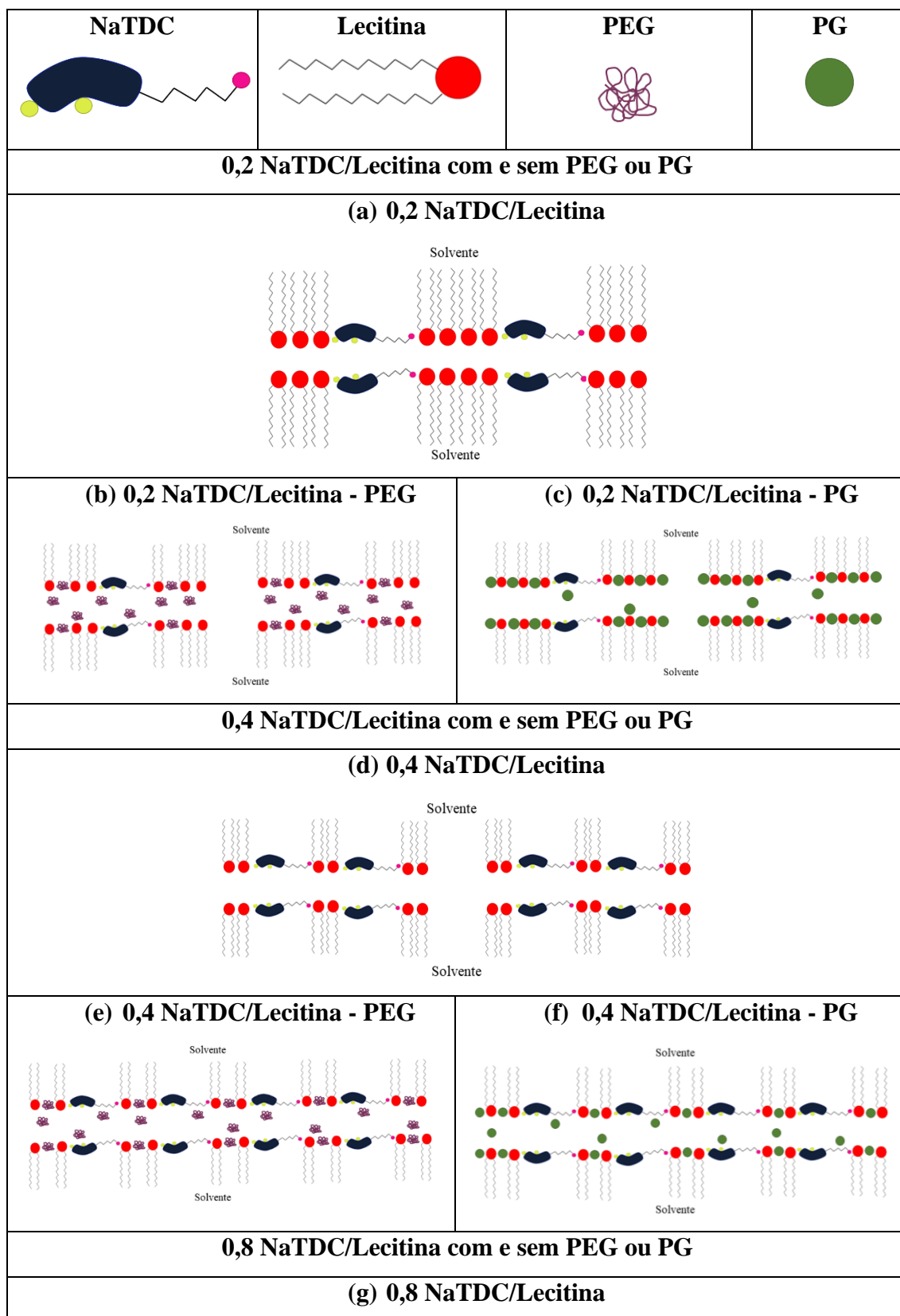
Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. Médias com o símbolo são relativas à proporção de 0,4 e médias com ** são relativas à proporção de 0,8.*

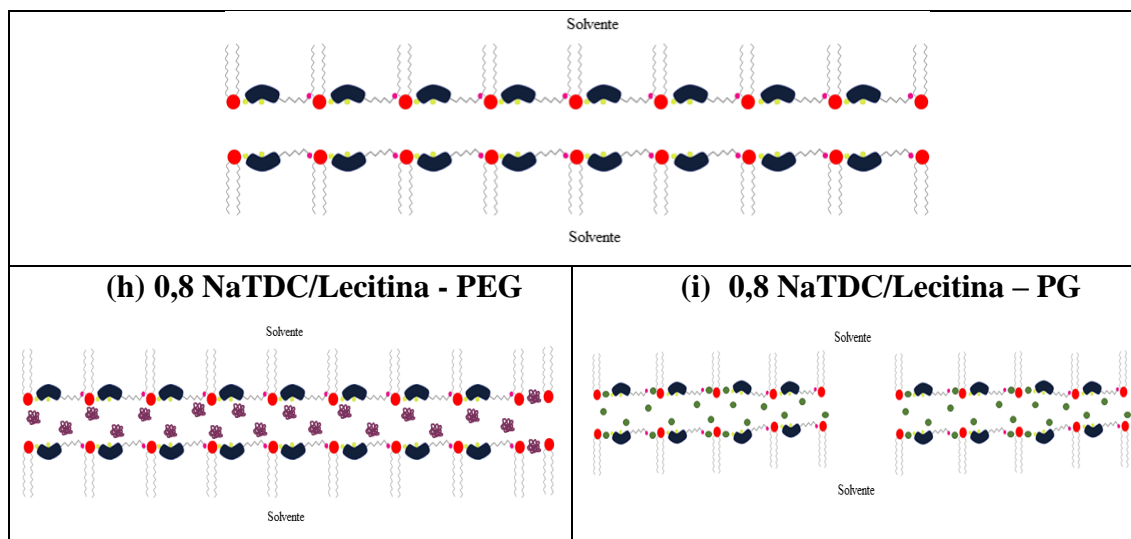
Os resultados mostraram a formação de agregados de NaTDC/Lecitina com e sem a adição de solutos com diferentes tamanhos, exceto para o sistema 0,2 NaTDC/Lecitina com PEG, no qual observou-se apenas uma população de tamanho dos agregados de 2230 nm. Além disso, a adição dos solutos polares PEG e PG diminuíram o tamanho dos agregados nas proporções 0,2 e 0,8 NaTDC/Lecitina, sendo mais significativa essa diminuição na presença do soluto polimérico. A adição de PEG no sistema de 0,8 mesmo com a diminuição do tamanho dos agregados promoveu um aumento significativo no valor de η_0 , indicando que este soluto, nesta proporção, aumentou o entrelaçamento entre os agregados.

Entretanto, na proporção 0,4 sal de bile/Lecitina houve um aumento no tamanho dos agregados, principalmente os formados na presença PG. Desta forma, a adição de solutos polares levou a obtenção de populações com uma diferença significativa entre os tamanhos dos agregados, sugerindo a formação de diferentes estruturas e morfologias para os agregados de NaTDC/Lecitina.

Com base nos dados reológicos, a Figura 32 propõe um esquema de como os solutos PEG e PG afetam os agregados de NaTDC/Lecitina.

Figura 32: Ilustração esquemática dos diferentes agregados formados nos sistemas NaTDC/Lecitina com e sem a adição de PEG e PG.



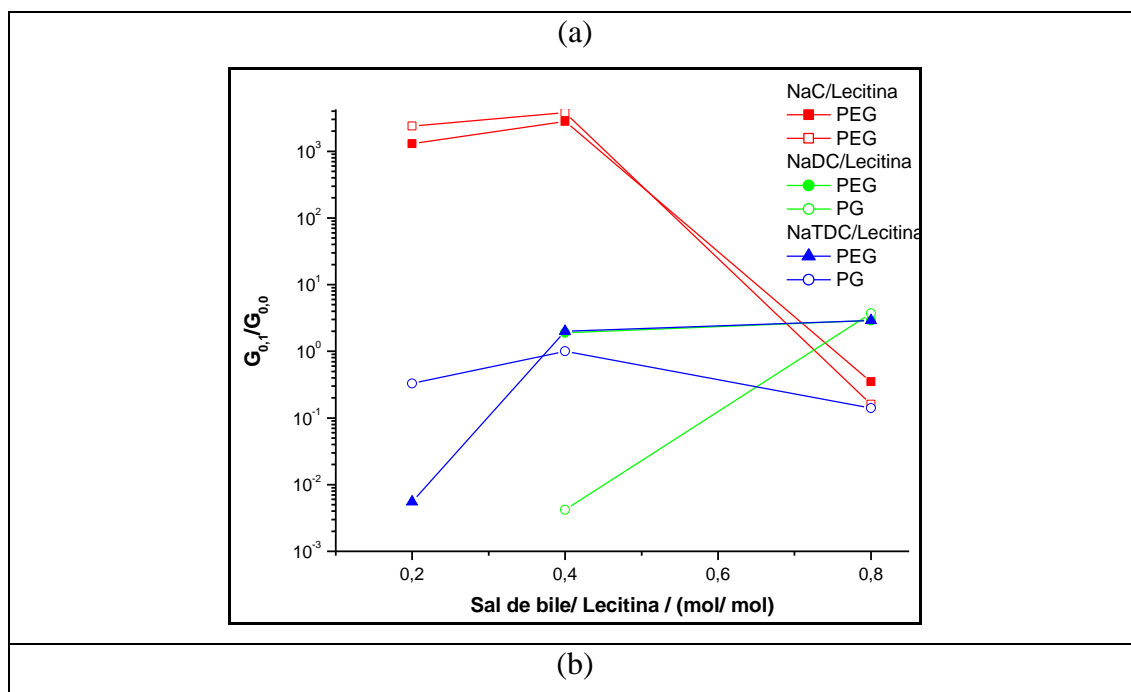


Os resultados mostraram que os solutos polares influenciam a formação dos agregados de NaTDC/Lecitina de forma diferente. Para o sistema 0,2 NaTDC/Lecitina, a adição de PEG (Figura 32b) leva à uma diminuição do tamanho e do entrelaçamento entre os agregados, levando a uma perda na viscoelasticidade dos sistemas, enquanto a adição de moléculas de PG (Figura 32c) não há uma diminuição significativa dos entrelaçamentos dos agregados, conferindo aos sistemas viscoelasticidade. Neste caso, as moléculas de PG interagem com as pontas das micelas (“end cap of the micelle”) via ligações de hidrogênio, reduzindo a energia nessa região e estabilizando a formação das micelas gigantes (Cheng et al, 2014). Para a proporção 0,4 NaTDC/Lecitina, a adição das cadeias de PEG (Figura 32 e) e as moléculas de PG (Figura 32f) promovem a formação de sistemas viscoelásticos devido ao maior número de entrelaçamentos entre as micelas gigantes, especialmente para o sistema contendo PEG, indicando a formação de estruturas cilíndricas mais longas em comparação com o sistema sem adição dos solutos, principalmente para na presença de PEG (Francisco et al, 2010). Os sistemas na proporção 0,8 NaTDC/Lecitina na presença de PEG e PG (Figuras 32h e 32i) também são viscoelásticos, mas neste caso este comportamento é devido ao aumento do tempo de relaxação das micelas gigantes, indicando que os solutos interagem fortemente com os finais das micelas e também com a lecitina e NaTDC, estabilizando o agregado formado (Cheng et al, 2014).

3.4. Comparação entre os diferentes sais de bile na formação dos agregados sal de bile/lecitina com e sem adição de PEG ou PG

A Figura 33 mostra a comparação entre os valores de $G_{0,1}/G_{0,0}$ e $\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$ (Tabelas 4, 11 e 17) para todos os sais de bile (NaC, NaDC e NaTDC) nas três proporções de sal de bile/Lecitina com a adição dos solutos PEG ou PG. A Tabela 18 apresenta as morfologias sugeridas pelas medidas de SAXS e reológicas para os sistemas formados por NaC e NaDC (Tabelas 5 e 12) e as morfologias propostas por medidas reológicas para os sistemas formados por NaTDC (Figura 31). A Figura 33 mostra os comprimentos de persistência (l_p) obtidos pelas curvas de SAXS para os sistemas formados por NaC e NaDC.

Figura 33: Valores de (a) $G_{0,1}/G_{0,0}$ e (b) $\tau_{R,1}/\tau_{R,0}$ dos sistemas sal de bile/ Lecitina com adição de PEG ou PG: (■) NaC; (●) NaDC e (▲) NaTDC. Os sistemas contendo PEG ou PG estão representados pelos símbolos abertos e símbolos fechados, respectivamente.



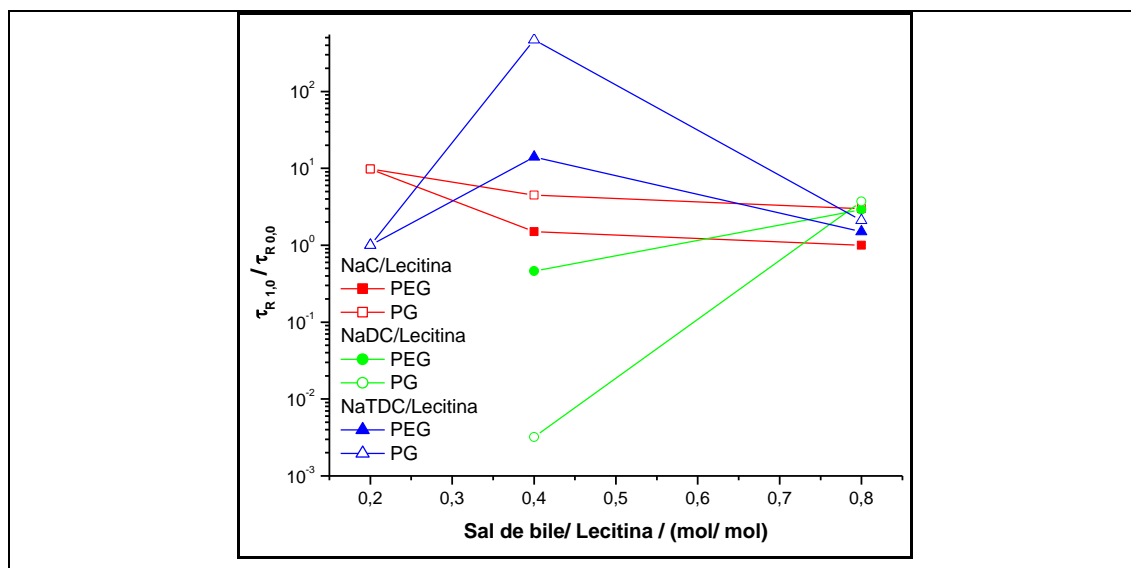
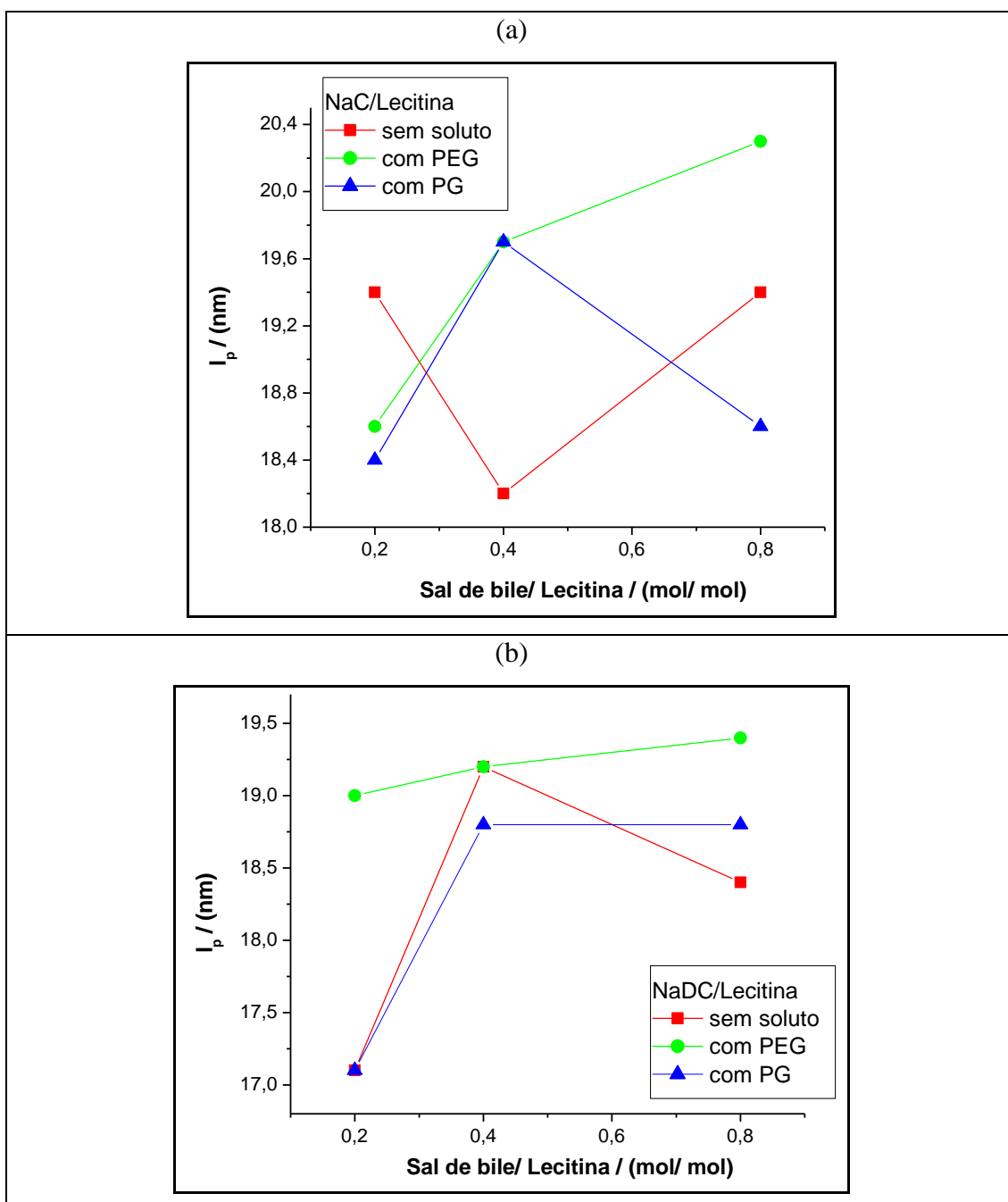


Tabela 18: Morfologias dos agregados obtidas por medidas de SAXS para os sistemas contendo NaC e NaDC e morfologia proposta para os sistemas contendo NaTDC à partir de medidas reológicas. (*Morfologias propostas somente a partir dos dados reológicos).

Proporção	NaC/Lecitina	PEG	PG
0,2	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela
0,4	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela
0,8	Lamela	Lamela	Lamela e fase hexagonal
Proporção	NaDC/Lecitina	PEG	PG
0,2	Micela esférica e nanolipossoma	Micela gigante	Micela gigante
0,4	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lipossoma	Micela gigante
0,8	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela	Micela gigante e lamela
Proporção	NaTDC/Lecitina*	PEG*	PG*
0,2	Micela gigante	Micela gigante (curta)	Micela gigante (curta)
0,4	Micela gigante	Micela gigante	Micela gigante

0,8	Micela gigante	Micela gigante	Micela gigante (curta)
-----	----------------	----------------	---------------------------

Figura 34: Comprimentos de persistência dos sistemas de (a) NaC/Lecitina e (b) NaDC/Lecitina em função das proporções (0,2, 0,4 e 0,8) com e sem a adição dos solutos PEG e PG.



Os resultados mostram que a diferença da estrutura química dos sais de bile afeta os parâmetros reológicos, morfologias e comprimentos de persistência, l_p , dos agregados de sal de bile/Lecitina com e sem adição de PEG e PG. Os sais de bile possuem polaridades diferentes, e em solvente apolar essa diferença altera a proporção de sal de bile/Lecitina em que micelas gigantes são formadas (Njaw et al, 2013). A saber, as micelas gigantes de NaC/Lecitina, NaDC/Lecitina e NaTDC/Lecitina são formadas nas proporções 0,4, 0,45 e 0,8, respectivamente (Tung, Hung & Raghavan, 2006). A polaridade dos sais de bile cresce na seguinte ordem: NaTDC < NaDC < NaC, em que os sais NaTDC e NaDC possuem dois grupos hidroxilas em seu anel e o NaC possui três grupos -OH, e o NaTDC é menos polar que o NaDC devido ao seu grupo taurina (Tung, Hung & Raghavan, 2006). Dessa forma, a adição dos solutos polares polimérico (PEG) e monomérico (PG), mesmo em quantidades baixas, afetam o balanço entre as interações estabelecidas entre os surfactantes, principalmente devido às novas ligações de hidrogênio que os grupos hidroxilas dos solutos podem fazer com os surfactantes (Najar et al, 2021).

Para os sistemas contendo os sais de bile mais polares (NaC e NaDC), a adição dos solutos PEG e PG, em geral, promove a formação de micelas gigantes mais longas (altos valores de G_0) e, conseqüentemente, o aumento da viscoelasticidade dos sistemas. Ou seja, há uma forte interação entre as moléculas de PEG ou PG com a lecitina e o sal de bile, levando a formação de uma maior quantidade de pontos de entrelaçamentos nos sistemas, resultado das ligações de hidrogênio que ocorrem com os grupos hidroxilas dos solutos e os grupos polares dos surfactantes, como observado para outros sistemas (Cheng et al, 2014). Ademais, as cadeias de PEG promovem um aumento nos valores de l_p dos sistemas NaC/Lecitina, indicando a formação de micelas cilíndricas menos flexíveis (Cheng et al, 2014), indicando que as cadeias de PEG se alojam não somente entre uma molécula de lecitina e do sal de bile e/ou dentro do seio (core) da micela, como também as cadeias influenciam na energia das pontas (end cap) das micelas gigantes.

Para os sistemas de NaTDC/Lecitina, a adição de PEG e PG, em geral, promove a formação de micelas curtas, mas com tempos de relaxação altos, e a diferença de magnitude entre esses dois parâmetros reológicos ditará a viscoelasticidade dos sistemas formados por NaTDC. Como o NaTDC é o menos polar, tem-se que as interações entre PEG e PG com o sal de bile é menos intensa em comparação com os outros dois sais, e, conseqüentemente, a interação dos solutos é mais forte com as moléculas de lecitina, como observado para outros sistemas (Tung & Raghavan, 2008; Jung, et al, 2020; Tung,

Huang & Raghavan, 2006; Kim et al, 2021; Okuro et al, 2020a; Njauw et al, 2013; Park et al, 2022; Cautela et al, 2017; Lee & Lee, 2018; Zoratto et al, 2019; Okuro et al, 2018).

Assim, na presença dos solutos, as moléculas de lecitina terão uma menor interação com o sal de bile, promovendo a quebra dos agregados em baixas concentrações do sal de bile, como observado para outros sistemas de micelas gigantes com adição de determinados moléculas (Francisco et al, 2010; Francisco et al, 2012). Entretanto, como os solutos são muito polares, os agregados de NaTDC/ Lecitina e PEG ou PG formados tenderão a ter tempos de relaxação altos para que os grupos polares das moléculas não interajam com o solvente apolar. Os agregados de NaTDC/Lecitina na presença das cadeias de PEG também possuem valores mais altos de l_p , indicando a formação de micelas menos flexíveis.

Dessa forma, os resultados mostraram a versatilidade em obter sistemas com diferenças significativas no seu comportamento reológico apenas variando a composição e adição de solutos polares aos sistemas de sal de bile/ Lecitina em cicloexano. Sistemas mais viscoelásticos, neste caso 0,8 NaDC/Lecitina na presença de PEG ou PG, podem ser utilizados para encapsulamento de fármacos a serem liberados na mucosa bucal ou na pele, por exemplo. Sistemas com viscoelasticidade intermediária (NaC/Lecitina e NaDC/Lecitina na presença de PEG e PG) são fortes candidatos na formulação de cremes de pele, encapsulando moléculas de interesse como o ácido hialurônico e vitamina D. Os sistemas mais fluidos (NaTDC/Lecitina com adição de PEG ou PG) podem ser empregados na encapsulação de substâncias que precisam ser liberadas na forma de spray no ambiente, por exemplo.

Capítulo 4: Conclusão

A adição dos solutos polares PEG e PG aos sistemas de sal de bile/Lecitina promoveu mudanças nos tamanhos e formas dos agregados, e assim, influenciando o comportamento reológico dos sistemas. Os resultados de curva de fluxo mostraram que todos os sistemas se comportaram como fluidos não-Newtonianos, sendo observado os fenômenos de *shear thinning* e *shear thickening*. Em geral, a presença dos solutos aumentou os valores de viscosidade no platô para os sistemas formados por NaC/Lecitina e NaDC/Lecitina. O aumento dos valores de η_0 pode ser atribuído à formação de estruturas mais longas, levando a uma maior quantidade de entrelaçamentos e/ou maior tempo de relaxação das micelas.

Os ensaios oscilatórios apontaram que a maioria os sistemas apresentaram comportamento viscoelásticos. A adição dos solutos influenciou o comportamento dos agregados devido às interações estabelecidas com a lecitina e os sais de bile, ora tornando as micelas mais curtas (agregados de NaTDC/Lecitina na presença de PEG), gerando uma diminuição na viscoelasticidade, ora às tornando maiores (agregados de NaC/Lecitina e NaDC/Lecitina na presença de PEG e PG) e, portanto, aumentando a viscoelasticidade. Os dados de SAXS apontaram a formação preferencialmente de micelas gigantes curtas e longas, e lamelas. Ademais, os comprimentos de persistência dos agregados na presença de PG são menores do que os obtidos para os sistemas na presença de PEG, indicando uma maior flexibilidade das micelas de sal de bile/Lecitina/PG.

Devido as propriedades apresentadas pelos sistemas, essas estruturas supramoleculares podem ser utilizadas em diversas aplicações, com potencial uso para produtos cosméticos e sistemas de liberação controlada de medicamentos, trocando o solvente apolar por óleo mineral, por exemplo. Alguns exemplos que podem ser mencionados são: sistemas mais viscoelásticos (0,8 NaDC/Lecitina – PG) podem ser utilizados no desenvolvimento de pomadas para queimaduras, e os sistemas mais fluidos (0,8 NaC/Lecitina – PG) podem ser utilizados para encapsulação de ativos e aplicados como sérums faciais.

Referências Bibliográficas

- ABBAS H., SAYED N. S., ALI M. E., ELSHEIKH M. A. Integrated lecithin-bile salt nanovesicles as a promising approach for effective skin delivery of luteolin to improve UV-induced skin damage in Wistar Albino rats. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 211, p. 112299, 2022
- ACHARYA, K. R.; HATTACHARYA, S. C.; MOULIK, S. P. The surfactant concentration-dependent behavior of safranin T in Tween (20, 40, 60, 80) and Triton X-100 micellar media. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. v. 109, p. 29 – 34, 1997.
- AGRAWAL, N. R., OMAROVA, M., BURNI, F., JOHN, V. T., RAGHAVAN, S. R. Spontaneous Formation of Stable Vesicles and Vesicle Gels in Polar Organic Solvents. **Langmuir**, v. 37, n. 26, p. 7955-7965, 2021.
- ALAM, M. M.; SUGIYAMA, Y.; WATANABE, K.; ARAMAKI, K. Phase behavior and rheology of oil-swollen micellar cubic phase and gel emulsions in nonionic surfactant systems. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 341, p. 267 – 272, 2010.
- ALEKSANDAR, R.; MILICA, P. K.; GORANA, M.; BORIS, M.; ANASTAZIJA, S. M.; MLADENA, L. P.; SNEZANA, S.; NEBOJSA, S.; SLOBODAN, G. Interaction between apigenin and sodium deoxycholate with raloxifene: A potential risk for clinical practice. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 161, 105809, 2021.
- ALHAJJ, M. J.; MONTERO, N.; YARCE, C. J.; SALAMANCA, C. H. Lecithins from Vegetable, Land, and Marine Animal Sources and Their Potential Applications for Cosmetic, Food, and Pharmaceutical Sectors. **Cosmetics**. v. 7, n. 87, 2020.
- ALPER, A.; PASHANKAR, D. S. Polyethylene Glycol: A Game-Changer Laxative for Children. **JPGN**. v. 57, 2013.
- ÁLVAREZ-RAMÍREZ, J. G.; FERNÁNDEZ, V. V. A.; MACÍAS, E. R.; RHARBI, Y.; TABOADA, P.; GÁMEZ-CORRALES, R.; PUIG, J. E.; SOLTERO, J. F. A. Phase behavior of the Pluronic P103/water system in the dilute and semi-dilute regimes. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 333, p. 655 – 662, 2009.
- AMÉZQUETA, S.; PUMAREGA, A. F.; FARRÉ, S.; LUNA, D.; FUGUET, E.; ROSÉS, M. Lecithin liposomes and microemulsions as new chromatographic phases. **Journal of Chromatography A**. v. 1611, 460596, 2020.
- ANZINI, P.; REDOGLIO, D.; ROCCO, M.; MASCIOCCHI, N.; FERRI, F. Light Scattering and Turbidimetry Techniques for the Characterization of Nanoparticles and Nanostructured Networks. **Nanomaterials**. v. 12, 2214, 2022.
- ARAMAKI, K., OOISHI, K., FUJII, M., KATSUHIKO, A., SHRESTHA, L. K. Demonstration of a novel charge-free reverse wormlike micelle. **Langmuir**, v. 34, p. 8670 - 8677, 2018.
- ARLETH L., BAUER R., OGENDAL L. H., EGELHAAF S. U., SCHURTENBERGER P., PEDERSEN J. S. Growth behavior of mixed wormlike micelles: a small-angle scattering study of the lecithin-bile salt system. **Langmuir**. v. 19, p. 4096-4104, 2003.
- ATKINS, P.; PAULA, J. **Físico-Química – Fundamentos**. 6° ed. LTC. 2017

- ATTIA, A. B. E.; ONG, Z. Y.; HEDRICK, J. L.; LEE, P. P.; EE, P. L. R.; HAMMOND, P. T.; YANG, Y. Y. Mixed micelles self-assembled from block copolymers for drug delivery. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. v. 16, p. 182 – 194, 2011.
- BAÑUELOS, J. L. One equipment, many applications – Xeuss 2.0 HR P200 at the University of Texas at El Paso. **Xenocs**. Disponível em: <https://www.xenocs.com/one-equipment-many-applications-xeuss-2-0-hr-p200-at-the-university-of-texas-at-el-paso/>. Acesso em: 01 ago. 2023.
- BARNES H. A., HUTTON J. F., WALTERS K. F.R.S. **An Introduction to Rheology**, 3ªed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1993.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**. v. 235, p. 337 – 351, 2016.
- BINTANG, M. A. K. M.; TIPMANEE, V.; SRICHANA, T. Colistin sulfate-sodium deoxycholate sulfate micelle formulations; molecular interactions, cell nephrotoxicity and bioactivity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v. 79, 104091, 2023.
- BIRRU, W. A., WARREN, D. B., IBRAHIM, A., WILLIAMS, H. D., BENAMEUR, H., PORTER, C. J. H, CHALMERS, D. K, POUTON, C. W., Digestion of phospholipids after secretion of bile into the duodenum changes the phase behavior of bile componentes. **Molecular Pharmaceutis**, v. 11, p. 2825-2834, 2014.
- BOKOV, D.; ETHAFA, L. F. M.; ABILMAZHINOV, Y.; THANGAVELU, L.; SURENDAR, A.; POKROVSKII, M.; ABDELBASSET, W. K. Study on the preservative properties of glycol on food. **Food Science and Technology**. 2021.
- BOSE, A. L., BHATTACHARJEE, D., GOSWAMI, D. Mixed micelles and bicontinuous microemulsions: Promising media for enzymatic reactions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 209, p. 112193, 2022.
- BOT, F.; COSSUTA, D.; O'MAHONY, J. A. Inter-relationships between composition, physicochemical properties and functionality of lecithin ingredients. **Trends in Food Science & Technology**. v. 111, p. 261 – 270, 2021.
- BOTTARI, E. & FESTA, M. R. On the Composition of Sodium Taurodeoxycholate Micellar Solutions. **Langmuir**. v. 12, p. 1777 – 1783. 1996
- BU, X.; JI, N.; DAI, L.; DONG, X.; CHEN, M.; XIONG, L.; SUN, Q. Self-assembled micelles based on amphiphilic biopolymers for delivery of functional ingredients. **Trends in Food Science & Technology**. v. 114, p. 386 – 398, 2021.
- CAPAROSA, M. H.; HARTEL, R. W. Characterizing Lecithin Interactions in Chocolate Using Interfacial Properties and Rheology. **J Am Oil Chem Soc**. v. 97, p. 1309 – 1317, 2020.
- CASTRO B., GAMEIRO P., GUIMARÃES C., LIMA J. L. F. C., REIS S. Study of partition of nitrazepam in bile salt micelles and the role of lecithin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 24, p. 595 – 602, 2001.
- CATES, M. E.; CANDAU, S. J. Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. **J. Phys.: Condens. Matter**. v. 2, p. 6869 – 6892, 1990.
- CAUTELA, J.; GIUSTINI, M.; PAVEL, N. V.; PALAZZO, G.; GALANTINI, L. Wormlike reverse micelles in lecithin/bile salt/water mixtures in oil. **Colloids and Surfaces A**. v. 532, p. 411 – 419, 2017.

CHAN, J. M.; ZHANG, L.; YUET, K. P.; LIAO, G.; RHEE, J. W.; LANGER, R.; FAROKHZAD, O. C. PLGA–lecithin–PEG core–shell nanoparticles for controlled drug delivery. **Biomaterials**. v. 30, p. 1627 – 1634, 2009.

CHANG H. M., LIN C. Y., TUNG S. H. Correlations between temperature-dependent rheology and electrostatic interactions in reverse wormlike micelles induced by inorganic salts. **Soft Matter**. v. 16, p. 3505 - 3513, 2020.

CHAUHAN, S.; JYOTI, J.; SHARMA, K.; KUMAR, K. A conductance study to analyze the effect of organic solvents on micellization behavior of carbohydrate-surfactant system at variable temperatures. **Fluid Phase Equilibria**. v. 375, p. 286 – 292, 2014.

CHENG, C. Y.; OH, H.; WANG, T. Y.; RAGHAVAN, S. R.; TUNG, S. H. Mixtures of Lecithin and Bile Salt Can Form Highly Viscous Wormlike Micellar Solutions in Water. **Langmuir**. v. 30, p. 10221 – 10230, 2014.

CHENG, C. Y., WANG, T. Y., TUNG, S. H. Biological hydrogels formed by swollen multilamellar liposomes. **Langmuir**. v. 31, n. 49, p. 13312 – 13320, 2015.

CREATTO, E. J.; OKASAKI, F. B.; CARDOSO, M. B.; SABADINI, E. Wormlike micelles of CTAB with phenols and with the corresponding phenolate derivatives - When hydrophobicity and charge drive the coacervation. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 627, p. 355 – 366, 2022.

DAHAL, E.; GHAMMRAOUI, B.; BADANO, A. Characterization of materials embedded in thick objects using spectral small-angle x-ray scattering. **J. Phys. D: Appl. Phys.** v. 53, 245302, 2020.

DEY, A.; KHAN, F.; MUKHOPADHYAY, M.; MUKHOPADHYAY, J.; MUKHERJEE, M.; DUTTA, K.; DAS, S. Amphiphilically engineered sodium deoxycholate based nanocomposite hydrogels with strong bactericidal and water absorption characteristics. **Materials Today Communications**. v. 34, 105353, 2023.

EGELHAAF S. U., SCHURTENBERGER P. Shape transformations in the lecithin-bile salt system: from cylinders to vesicles. **J. Phys. Chem.** v. 98, p. 8560-8573, 1994.

EGELHAAF S. U., SCHURTENBERGER P. A time-resolved small angle neutron scattering study of the micelle-to-vesicle transition. **Physica B**. v. 234-236, p. 276-276, 1997.

EGELHAAF S. U., MÜLLER M., SCHURTENBERGER P. Size determination of polymer-like micelles using cryo-electron microscopy. **Langmuir**. v. 14, n. 16, p. 4345-4349, 1998.

EINIEN, M. H. A.; KANDIL, S. M.; ABDU, E. M.; DIAB, H. M.; ZAKI, M. S. E. Ascorbic acid derivative-loaded modified aspasomes: formulation, in vitro, ex vivo and clinical evaluation for melasma treatment. **Journal of Liposome Research**. v. 30, n. 1, p. 54 – 67, 2020.

EINSTEIN, A. Über einen die Erzeugung und Verwandlung des Lichtes betreffenden heuristischen Gesichtspunkt. **Annalen der Physik**. v. 32, p. 132 – 148, 1905.

EINSTEIN, A. Zur Theorie der Brownschen Bewegung. **Annalen der Physik**. v. 324, p. 371 – 381, 1906.

FENG, Y.; CHU, Z.; DREISS, C. A. **Smart Wormlike Micelles: Design, Characteristics and Applications**. Springer, 2015.

- FENG, J.; KRIECHBAUM, M.; LIU, L. E. In situ capabilities of Small Angle X-ray Scattering. **Nanotechnol Rev.** v. 8, p. 352 – 369, 2019.
- FIUME, M. M.; BERGFELD, W. F.; BESITO, D. V.; HILL, R. A.; KLAASSEN, C. D.; LIEBLER, D.; MARKS, J. G.; SHANK, R. C.; SLAGA, T. J.; SNYDER, P. W.; ANDERSEN, F. A. Safety Assessment of Propylene Glycol, Tripropylene Glycol, and PPGs as Used in Cosmetics. **International Journal of Toxicology.** v. 31, 2012.
- FRANCISCO, K. R.; 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, p. 351 – 359, 2010.
- FRANCISCO, K. R.; DREISS, C. A.; BOUTEILLER, L.; SABADINI, E. Tuning the Viscoelastic Properties of Bis(urea)-Based Supramolecular Polymer Solutions by Adding Cosolutes. **Langmuir.** v. 28, p. 14531 – 14539, 2012.
- FRISKEN, B. J. Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. **Applied Optics.** v. 40, n. 24, 2001.
- GÁNDOLA, Y. B.; FONTANA, C.; BOJORGE, M. A.; LUSCHNAT, T. T.; MORETTON, M. A.; CHIAPETTA, D. A.; VERSTRAETEN, S. V.; GONZÁLEZ, L. Concentration-dependent effects of sodium cholate and deoxycholate bile salts on breast cancer cells proliferation and survival. **Molecular Biology Reports.** v. 47, p. 3521 – 3539, 2020.
- GANGADHAR, K. N.; ADHIKARI, K.; SRICHANA, T. Synthesis and evaluation of sodium deoxycholate sulfate as a lipid drug carrier to enhance the solubility, stability and safety of an amphotericin B inhalation formulation. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 471, p. 430 – 438, 2014.
- GOODWIN, J. W. **Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers – An Introduction.** West Sussex: Wiley, 2004.
- GRAWERT, T. W.; SVERGUN, D. I. Structural Modeling Using Solution Small-Angle X-ray Scattering (SAXS). **Journal of Molecular Biology.** v. 432, p. 3078 – 3092, 2020.
- GUILBAUD, J. B.; SAIANI, A. Using small angle scattering (SAS) to structurally characterize peptide and protein self-assembled materials. **Chem. Soc. Rev.** v. 40, p. 1200 – 1210, 2011.
- GUINIER, A.; FOURNET, G. **Small-angle Scattering of X-Rays.** John Wiley & Sons, Inc. New York. 1955.
- GUZMÁN, E.; TAJUELO, J.; PASTOR, J. M.; RUBIO, M. A.; ORTEGA, F.; RUBIO, R. G. Shear rheology of fluid interfaces: Closing the gap between macro- and micro-rheology. **Current Opinion in Colloid & Interface Science.** v. 37, p. 33 – 48, 2018.
- HASHIZAKI, K.; SAKANISHI, Y.; YAKO, S.; TSUSAKA, H.; IMAI, M.; TAGUCHI, H.; SAITO, Y. New Lecithin Organogels from Lecithin/Polyglycerol/ Oil Systems. **J. Oleo Sci.** v. 61, n. 5, p. 267 – 275, 2012.
- HANIO, S., SCHLAUERSBACH, J., LENZ, B., SPIEGEL, F., BÖCKMANN, R. A., SCHWEINS, R., NISCHANG, I., SCHUBERT, U. S., ENDRES, S., PÖPPLER, A., BRANDL, F. P., SMIT, T. M., KOLTER, K., MEINEL, L. Drug-Induced Dynamics of Bile Colloids. **Langmuir.** v. 37, n. 8, p. 2543- 2551, 2021.

HASSAN, P. A.; RANA, S.; VERMA, G. Making Sense of Brownian Motion: Colloid Characterization by Dynamic Light Scattering. **Langmuir**. v. 31, p. 3 – 12, 2015.

HERNÁNDEZ, F. J. R.; TORO, J. H. S.; FLOR, N. M. P. Testing shear thinning/thixotropy and shear thickening/antithixotropy relationships in a fumed silica suspension. **Journal of Rheology**. v. 64, p. 785 – 797, 2020.

HU, S.; SUN, T.; LI, R.; ZHANG, D.; ZHANG, Y.; YANG, Z.; FENG, G.; GUO, X. Comparison of the Performance of Different Bile Salts in Enantioselective Separation of Palonosetron Stereoisomers by Micellar Electrokinetic Chromatography. **Molecules**. v. 27, 5233, 2022.

HWANG, D.; RAMSEY, J. D.; KABANOV, A. V. Polymeric micelles for the delivery of poorly soluble drugs: From nanoformulation to clinical approval. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 156, p. 80 – 118, 2020.

ISRAELACHVILI, J. N.; MITCHELL, J.; NINHAM, B. W. Theory of Self-Assembly of Hydrocarbon Amphiphiles into Micelles and Bilayers. **J Chem Soc Faraday Trans II**. v. 72, p. 1525 – 1568, 1976.

JAIN U. K., HIGUCHI W. I., LIU C. L., LEE P. H., MAZER N. A. Cholesterol (thermodynamic activity determinations in bile sal-lecithin-cholesterol systems and cholesterol-rich liquid crystalline mesophase formation. **Pharmaceutical Research**. v. 9, n. 6, p. 792-799, 1992.

JIA, Z.; LI, J.; GAO, L.; YANG, D.; KANAIEV, A. Dynamic Light Scattering: A Powerful Tool for In Situ Nanoparticle Sizing. **Colloids Interfaces**. v. 7, n. 15, 2023.

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.

JOVER, A.; TRONCOSO, J.; GREGORIO, M. C.; LÓPEZ, F. F. Thermodynamic properties of sodium deoxycholate at the gel-sol transition. **Journal of Molecular Liquids**. v. 361, 119621, 2022.

JOHNSON, W.; BERGFELD, W. F.; BELSITO, D. V.; HILL, R.; KLAASSEN, C. D.; LIEBLER, D. C.; MARKS, J. G.; SHANK, R. C.; SLAGA, T. J.; SNYDER, P. W.; GILL, L. J.; HELDRETH, B. Safety Assessment of Lecithin and Other Phosphoglycerides as Used in Cosmetics. **International Journal of Toxicology**. v. 39, 2020.

JUNG Y. G, LEE C. R., KIM H. J., KIM M. G., JIN K. S., LEE H. H. Effect of hydrocarbon chain length of aliphatic solvents on the reverse self-assembly of lecithin and monovalent ion mixtures. **Colloids and Surfaces A**, v. 607, p. 125411, 2020.

KAUR, K.; JUGLAN, K. C.; KUMAR, H. Acoustical and volumetric investigation of polyethylene glycol 400 and polyethylene glycol 4000 in aqueous solutions of glycerol at different temperatures. **J. Chem. Thermodynamics**. v. 127, p. 8 – 16, 2018.

KIM, M. G., OH, E. J., JIN, K. S., CHANG, J. W., LEE, H. Y. Effect of sugar alcohols on the reverse self-assembly of lecithin in diverse organic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 330, p. 115670, 2021.

KOZAKA, S.; KASHIMA, A.; WAKABAYASHI, R.; NAKATA, T.; UEDA, T.; GOTO, M. Effective Transcutaneous Delivery of Hyaluronic Acid Using an Easy-to-Prepare Reverse Micelle Formulation. **Cosmetics**. v. 52, 2020.

- LE, N. T. T.; NGUYEN, D. T. D.; NGUYEN, N. H.; NGUYEN, C. K.; NGUYEN, D. H. Methoxy polyethylene glycol–cholesterol modified soy lecithin liposomes for poorly water-soluble anticancer drug delivery. **J Appl Polym Sci.** v. 138, 2021.
- LENG, J., EGELHAAF, S. U., CATES, M. E., Kinetics of the micelle-to-vesicle transition: aqueous lecithin-bile salt mixtures. **Biophysical Journal.** v. 85, p. 1624-1646, 2003.
- LEE, Y. K, LEE, H. Y. Gelation of commercially available mineral oils by lecithin and CaCl₂ mixture. **Colloids and Surfaces A,** v. 538, p. 661 - 667, 2018.
- LI, J.; WANG, X.; ZHANG, T.; WANG, C.; HUANG, Z.; LUO, X.; DENG, Y. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 10, p. 81 – 98, 2015.
- LI, Q.; YUE, X.; SHANG, P.; QUAN, Y.; REN, M.; MA, Y.; CHEN, X. Environmental stimuli induced phase transition in the aqueous mixture solution of Gemini surfactants and sodium deoxycholate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.** v. 489, p. 67 – 74, 2016.
- LI, W. Z.; HAO, X. L.; ZHAO, N.; HAN, W. X.; ZHAI, X. F.; ZHAO, Q.; WANG, Y. E.; ZHOU, Y. Q.; CHENG, Y. C.; YUE, Y. H.; FU, L. N.; ZHOU, J. L.; WU, H. Y.; DONG, C. J. Propylene glycol-embodied deformable liposomes as a novel drug delivery carrier for vaginal fibrauretine delivery applications. **Journal of Controlled Release.** v. 226, p. 107 – 114, 2016.
- LI, Y., LIUI, Y., WANG, L., LU, H., A pH-sensitive w/o emulsion for the preparation and rapid dissolution of polyacrylamide-based friction reducer. **New J. Chem.,** v. 46, p. 9075 - 9084, 2022.
- LIANOS, P.; LANG, J.; ZANA, R. Fluorescence Probe Study of the Effect of Concentration on the State of Aggregation of Dodecylalkyldimethylammonium Bromides and Dialkyldimethylammonium Chlorides in Aqueous Solution. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 91, n. 1, 1983.
- LONG, M. A., KALER, E. W., LEE, S. P. Structural characterization of the micelle-vesicle transition in lecithin-bile salt solution. **Biophysical Journal.** v. 67, p. 1733 - 1742, 1994.
- LU, S.; MEI, Q.; CHEN, J.; WANG, Z.; LI, W.; FENG, C.; LI, X.; DONG, J. Cryo-TEM and rheological study on shear-thickening wormlike micelles of zwitterionic/anionic (AHSB/SDS) surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 608, p. 513-524, 2022.
- LUK, A. S., KALER, E. W., LEE, S. P. Structural mechanisms of bile salt-induced growth of small unilamellar cholesterol-lecithin vesicles. **Biochemistry.** v. 36, p. 5633 - 5644, 1997.
- MACOSKO, C. W. **Rheology: principles, measurements, and applications.** New York: Wiley - VCH, 1994.
- MADENCI, D.; EGELHAAF, S. U. Self-assembly in aqueous bile salt solutions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science.** v. 15, p. 109 – 115, 2010.
- MADENCI, D., SALONEN, A., SCHURTENBERGER, P., PEDERSEN, J. S., EGELHAAF, S. U. Simple model for the growth behaviour of mixed lecithin-bile salt micelles. **Phys. Chem. Chem. Phys.** v. 13, p. 3171-3178, 2011.

- MADHUMANCHI, S.; SUEDEE, R.; NAKPHENG, T.; TINPUN, K.; TEMBOOT, P.; SRICHANA, T. Binding interactions of bacterial lipopolysaccharides to polymyxin B in an amphiphilic carrier 'sodium deoxycholate sulfate'. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 182, 110374, 2019.
- MANNA, U.; GONZALEZ, Y. M. Z.; CARLTON, R. J.; CARUSO, F.; ABBOTT, N. L.; LYNN, D. M. Liquid Crystal Chemical Sensors That Cells Can Wear. **Angew. Chem.** v. 52, p. 14011 – 14015, 2013.
- MCDOWALL, D.; ADAMS, D. J.; SEDDON, A. M. Using small angle scattering to understand low molecular weight gels. **Soft Matter**. v. 18, p. 1577 – 1590, 2022.
- MEKKAOUI, A.; LIU, Y.; ZHANG, P.; ULLAH, S.; WANG, C.; XU, B. Effect of Bile Salts on the Interfacial Dilational Rheology of Lecithin in the Lipid Digestion Process. **Journal of Oleo Science**. v. 70, p. 1069 – 1080, 2021.
- MÉNDEZ, N. G.; GARAY, D. R. C.; RAMOS, M. Y. L. Lecithins: A comprehensive review of their properties and their use in formulating microemulsions. **Journal of Food Biochemistry**. v. 46, 14157, 2022.
- MOUAZ, A. B., LINDHEIMER, M, MONTET, J. C., ZAJAC, J., LAGERGE, S. A study of the adsorption bile salts onto model lecithin membranes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 20, p. 119 - 127, 2001.
- MYERS, D. **An Overview of Surfactant Science and Technology**. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, 2005.
- NA, M. KIM, K.; OH, K.; CHOI, H. J.; HA, C. M.; CHANG, S. Sodium Cholate-Based Active Delipidation for Rapid and Efficient Clearing and Immunostaining of Deep Biological Samples. **Small Methods**. v. 6, 2100943, 2022.
- NAJAR, M. H.; CHAT, O. A.; BHAT, P. A.; MIR, M. A.; RATHER, G. M.; DAR, A. A. Structural changes in trypsin induced by the bile salts: An effect of amphiphile hydrophobicity. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 180, p. 121–128, 2021.
- NASAB, M. E.; TAKZAREE, N.; SAFFARI, P. M.; PARTOAZAR, A. In vitro antioxidant activity and in vivo wound-healing effect of lecithin liposomes: a comparative study. **J. Comp. Eff. Res.** v. 8, p. 633 – 643, 2019.
- NEUBRAND, M. W., CAREY, M. C., LAUE, T. M., Influence of phosphatidylcholine and calcium on self-association and bile salt mixed micellar binding of the natural bile pigment, bilibubin ditaurate. **Biochemistry**, v. 54, p. 6783 - 6795, 2015.
- NJAUW, C. W.; CHENG, C. Y.; IVANOV, V. A.; KHOKHLOV, A. R.; TUNG, S. H. Molecular Interactions between Lecithin and Bile Salts/Acids in Oils and Their Effects on Reverse Micellization. **Langmuir**. v. 29, p. 3879 – 3888, 2013.
- NIGRO, V.; ANGELINI, R.; KING, S.; FRANCO, S.; BURATTI, E.; BOMBOI, F.; MAHMOUDI, N.; CORVASCE, F.; SCACCIA, R.; CHURCH, A.; CHARLESTON, T.; RUZICKA, B. Apparatus for simultaneous dynamic light scattering–small angle neutron scattering investigations of dynamics and structure in soft matter. **Rev. Sci. Instrum.** 92, 023907, 2021.
- NGUYEN, M. T.; WALLE, D. V.; PETIT, C.; BEHEYDT, B.; DEPYPERE, F.; DEWETTINCK, K. Mapping the Chemical Variability of Vegetable Lecithins. **J Am Oil Chem Soc.** v. 91, p. 1093 – 1101, 2014.

- NJAUM C. W., CHENG C. Y., IVANOV V. A., KHOKHLOV A. R., TUNG S. H. Molecular Interactions between lecithin and bile salts/acids in oils and their effects on reverse micellization. **Langmuir**, v. 29, p. 3879-3888, 2013.
- OH, E. J.; PARK, D. G.; LIM, Y. S.; JIN, K. S.; LEE, H. Y. Structural transition of reverse cylindrical micelles to reverse vesicles by mixtures of lecithin and inorganic salts. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 615, p. 768 – 777, 2022.
- OKURO, P. K., GASPERIN, I A. A. M., VICENTE, A. A., CUNHA, R. L. Lecithin and phytosterols-based mixtures as hybrid structuring agents in different organic phases. **Food Research International**, v. 111, p. 168-177, 2018a.
- OKURO, P. K., TAVERNIER, I., SINTANG, M. D. B., SKIRTACH, A. G., VICENTE, A. A., DEWETTINCK, K., CUNHA, R. L. Synergistic interactions between lecithin and fruit wax in oleogel formation. **Food Funct.**, v. 9, p. 1755-1767, 2018b.
- OKURO, P. K.; GASPERINI, A. A. M.; FASOLIN, L. H.; VICENTE, A. A.; CUNHA, R. L. Self-organizing structures of phosphatidylcholine in nonaqueous solvents: tailoring gel-like systems. **J. Surfact. Deterg.**, v. 23, p. 725-735, 2020a.
- OKURO, P. K., MARTINS, A. J., VICENTE, A. A., CUNHA, R. L., Perspective on oleogelator mixtures, structure design and behaviour towards digestability of oleogels. **Current Opinion in Food Science**, v. 35, p. 1-9, 2020b.
- OKURO, P. K., GOMES, A., CUNHA, R. L. Hybrid oil-in-water emulsions applying wax(lecithin)-based structured oils: Tailoring interfaces properties. **Food Research International**, v. 138, p. 109798, 2020.
- OKURO, P. K., SANTOS, T. P., CUNHA, R. L. Compositional and structural aspects of hydro- and oleogels: and specificities from the perspective of digestibility. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, p. 55-67, 2021.
- PABOIS, O.; LORENZ, C. D.; HARVEY, R. D.; GRILLO, I.; GRUNDY, M. M. L.; WILDE, P. J.; GERELLI, Y.; DREISS, C. A. Molecular insights into the behaviour of bile salts at interfaces: a key to their role in lipid digestion. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 556, p. 266 – 277, 2019.
- PABOIS, O.; MICHARD, A. A.; ZHAO, X.; OMAR, J.; AHMED, F.; ALEXIS, F.; HARVEY, R. D.; GRILLO, I.; GERELLI, Y.; GRUNDY, M. M. L.; BAJKA, B.; WILDE, P. J.; DREISS, C. A. Interactions of bile salts with a dietary fibre, methylcellulose, and impact on lipolysis. **Carbohydrate Polymers**. v. 231, 115741, 2020.
- PACELLI, S.; MUZIO, L.; PAOLICELLI, P.; FORTUNATI, V.; PETRALITO, S.; TRILLI, J.; CASADEI, M. A. Dextran-polyethylene glycol cryogels as spongy scaffolds for drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 166, p. 1292 – 1300, 2021.
- PARK, D. G., OH, E. J., CHU, E. A., JIN, K. S., CHO, S. K., LEE, H. Y. Effect of temperature on the reverse self-assembly of lecithin and sugar alcohol mixtures in a nonpolar solvent. **Journal of Molecular Liquids**, vol. 347, p. 118384, 2022.
- PAUL, B., BALARAM, P. A fluorescent probe study of the solubilisation of cholesterol by bile salt - phospholipid micelles. **Biochemical and Biophysical Research Communication**. v. 81, n. 3, p. 850 - 857, 1978.

PEDERSEN, J. S., EGELHAAF, S. U., SCHURTENBERGER, P. Formation of polymerlike mixed micelles and vesicles in lecithin-bile salt solutions: a small-angle neutron - scattering study. **J. Phys. Chem.** v. 99, p. 1299 - 1305, 1995.

PEMBERTON, M. A.; KIMBER, I. Propylene glycol, skin sensitisation and allergic contact dermatitis: A scientific and regulatory conundrum. **Regulatory Toxicology and Pharmacology.** v. 138, 2023.

PERCEBOM, A. M.; FERREIRA, G. A.; CATINI, D. R.; BERNARDES, J. S.; LOH, W. Phase Behavior Controlled by the Addition of Long-Chain n-Alcohols in Systems of Cationic Surfactant/Anionic Polyion Complex Salts and Water. **J. Phys. Chem. B.** v. 122, p. 4861 – 4869, 2018.

PILIPOVIC, A.; OCOKOLJIC, M.; JANEV, M.; POSA, M. The ternary mixed micelle of tween 20- sodium deoxycholate- sodium cholate: The molar excess thermodynamic potentials. **J. Chem. Thermodynamics.** v. 167, 2022.

PILLON, M. C.; GUARNÉ, A. Complementary uses of small angle X-ray scattering and X-ray crystallography. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics.** v. 1865, p. 1623–1630, 2017.

POSBEYIKIAN, A.; TUBERT, E.; BACIGALUPE, A.; ESCOBAR, M. M.; SANTAGAPITA, P. R.; AMOEDO, G.; PERULLINI, M. Evaluation of calcium alginate bead formation kinetics: An integrated analysis through light microscopy, rheology and microstructural SAXS. **Carbohydrate Polymers.** v. 269, 118293, 2021.

QIAN, K.; WINANS, R. E.; LI, T. Insights into the Nanostructure, Solvation, and Dynamics of Liquid Electrolytes through Small-Angle X-Ray Scattering. **Adv. Energy Mater.** v. 11, 2002821, 2021.

QU, Y.; TANG, J.; LIU, L.; SONG, L.; CHEN, S.; GAO, Y. α -Tocopherol liposome loaded chitosan hydrogel to suppress oxidative stress injury in cardiomyocytes. **International Journal of Biological Macromolecules.** 2018.

RAJENDRAN, V.; ROHRA, S.; RAZA, M.; HASAN, G. M.; DUTT, S.; GHOSH, P. C. Stearylamine Liposomal Delivery of Monensin in Combination with Free Artemisinin Eliminates Blood Stages of Plasmodium falciparum in Culture and P. berghei Infection in Murine Malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 60, n. 3, 2016.

ROBERTS, M. J.; BENTLEY, M. D.; HARRIS, J. M. Chemistry for peptide and protein PEGylation. **Advanced Drug Delivery Reviews.** v. 54, p. 459 – 476, 2002.

SABADINI, E.; FRANCISCO, K. R.; BOUTEILLER, Bis-Urea-Based Supramolecular Polymer: The First Self-Assembled Drag Reducer for Hydrocarbon Solvents. **Langmuir.** v. 26, p. 1482 – 1486, 2010.

SAPUTRO, A. D.; WALLE, D. V.; CAIQUO, B. A.; HINNEH, M.; KLUCZKOFF, M.; DEWETTINCK, K. Rheological behavior and microstructural properties of dark chocolate produced by combination of a ball mill and a liquefier device as small scale chocolate production system. **LWT - Food Science and Technology.** v. 100, p. 10 – 19, 2019.

SCHMITZ, K. S. **Introduction to Dynamic Light Scattering by Macromolecules.** Academic Press. San Diego. 1990.

SCHWARZ M. A., RAITH K., DONGOWSKI G., NEUBERT R. H. H. Effect on the partition equilibrium of various drugs by the formation of mixed bile salt/phosphatidylcholine/fatty acid micelles: A characterization by micellar affinity

- capillary electrophoresis. Part IV. **Journal of Chromatography A**. v. 809, p. 219-229, 1998.
- SEMBLAT, J. F. Rheological Interpretation of Rayleigh Damping. **Journal of Sound and Vibration**. v. 206, p. 741 – 744, 1997.
- SHABBIR, A., JANG, T., LEE, G., PANG, Y. Intramolecular charge transfer of coumarin dyes confined by metanol-in-oil reverse micelles. **Journal of Molecular Liquids**, v. 346, p. 118313, 2022.
- SHIM, D. F. K.; MARQUES, C.; CATES, M. E. Diblock Copolymers: Comicellization and Coadsorption. **Macromolecules**. v. 24, p. 5309 – 5314, 1991.
- SINGH, K.; CHAUHAN, S. Temperature dependent micellar behavior of sodium cholate and sodium deoxycholate in the presence of ceftriaxone sodium: A physicochemical study. **Journal of Molecular Liquids**. v. 316, 113833, 2020a.
- SINGH, K.; CHAUHAN, S. Interactional Behavior of Sodium Cholate and Sodium Deoxycholate in the Presence of Ceftriaxone Sodium: Volumetric, Compressibility, Viscometric, and Proton Nuclear Magnetic Resonance Studies. **J. Chem. Eng. Data**. v. 65, p. 4536 – 4546, 2020b.
- SINGH, V. K.; PANDEY, P. M.; AGARWAL, T.; KUMAR, D.; BANERJEE, I., ANIS, A.; PAL, K. Development of soy lecithin based novel self-assembled emulsion hydrogels. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**. v. 55, p. 250 – 263, 2016.
- SINHA, S. K.; SIROTA, E. B.; GAROFF, S. X-ray and neutron scattering from rough surfaces. **Physical Review B**. v. 38, n. 4, 1988.
- STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophys Ver**. v. 8, p. 409 – 427, 2016.
- SUYS, E. J. A.; WARREN, D. B.; PORTER, C. J. H.; BENAMEUR, H.; POUTON, C. W.; CHALMERS, D. K. Computational Models of the Intestinal Environment. 3. The Impact of Cholesterol Content and pH on Mixed Micelle Colloids. **Mol. Pharmaceutics**. v. 14, p. 3684 – 3697, 2017.
- 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
- TANG, X.; CAI, S.; ZHANG, R.; LIU, P.; CHEN, H.; ZHENG, Y.; SUN, L. Paclitaxel-loaded nanoparticles of star-shaped cholic acid-core PLA-TPGS copolymer for breast cancer treatment. **Nanoscale Research Letters**. v. 8, 2013.
- THONGNGAM, M.; McCLEMENTS, D. J. Influence of pH, Ionic Strength, and Temperature on Self-Association and Interactions of Sodium Dodecyl Sulfate in the Absence and Presence of Chitosan. **Langmuir**. v. 21, p. 79 – 86, 2005.
- TSUGAWA, J. K.; ROMANO, R. C. O.; PILEGGI, R. G.; BOSCOV, M. E. G. Review: Rheology concepts applied to geotechnical engineering. **Appl. Rheol**. v. 29, p. 202 – 221, 2019.
- TUNG, S. H.; HUANG, Y. E.; RAGHAVAN, S. R. A New Reverse Wormlike Micellar System: Mixtures of Bile Salt and Lecithin in Organic Liquids. **J. AM. CHEM. SOC**. v. 128, p. 5751 – 5756, 2006.
- TUNG, S. H., RAGHAVAN, S. R. Strain-stiffening response in transient networks formed by reverse wormlike micelles. **Langmuir**, v. 24, p. 8405-8408, 2008

- TURCHI, M.; KARCZ, A. P.; ANDERSSON, M. P. First-principles prediction of critical micellar concentrations for ionic and nonionic surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 606, p. 618 – 627, 2022.
- VAN NIEUWENHUYZEN, W.; TOMÁS, M. C. Update on vegetable lecithin and phospholipid Technologies. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** v. 110, p. 472 – 486, 2008.
- VARMA, K. S., SHUKLA, A. D., TAYADE, R. J., JOSHI, P. A., DAS, A. K., MODI, K. B., GANDHI, V. G., Photocatalytic performance and interaction mechanism of reverse micelle synthesized Cu-TiO₂ nanomaterials towards levofloxacin under visible LED light. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 21, p. 77-89, 2022.
- WANG, L.; LAI, C.; LI, D.; LUO, Z.; LIU, L.; JIANG, Y.; LI, L. Lecithin-Polysaccharide Self-Assembled Microspheres for Resveratrol Delivery. **Antioxidants**. v. 11, 1666, 2022.
- WANG, L.; YAN, W.; ZHOU, Y.; FAN, L.; LIU, Y.; LI, J. Progress in the application of lecithins in water-in-oil emulsions. **Trends in Food Science & Technology**. v. 118, p. 388 – 398, 2021.
- WANG, Y.; FERNANDES, R. M. F.; MARQUES, E. F. From single gemini surfactants in water to catanionic 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.
- WARREN, D. B.; CHALMERS, D. K.; HUTCHISON, K.; DANG, W.; POUTON, C. W. Molecular dynamics simulations of spontaneous bile salt aggregation. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. v. 280, p. 182 – 193, 2006.
- XIE, M.; DUNFORD, N. T. Lipid composition and emulsifying properties of canola lecithin from enzymatic degumming. **Food Chemistry**. v. 218, p. 159 – 164, 2017.
- XIE, M.; DUNFORD, N. T. Fractionating of canola lecithin from acid degumming and its effect. **Food Chemistry**. v. 300, 125217, 2019.
- XU, X.; JIAO, C.; YANG, H.; CHEN, H.; WANG, J. Oxidation of sodium cholate catalyzed by Au NPs and chiral selective binding of R- and S-binaphthyl derivatives. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 648, 129209, 2022.
- YU, Z.; BALSARA, N. P.; BORODIN, O.; GEWIRTH, A. A.; HAHN, N. T.; MAGINN, E. J.; PERSSON, K. A.; SRINIVASAN, V.; TONEY, M. F.; XU, K.; ZAVADIL, K. R.; CURTISS, L. A.; CHENG, L. Beyond Local Solvation Structure: Nanometric Aggregates in Battery Electrolytes and Their Effect on Electrolyte Properties. **ACS Energy Letters**. v. 7, p. 461 – 470, 2021.
- ZÁRATE, M. A.; RODRIGUEZ, B. A. M.; VAZQUEZ, J. F. T.; MARANGONI, A. G. Engineering rheological properties of edible oleogels with ethylcellulose and lecithin. **Carbohydrate Polymers**. v. 205, p. 98 – 105, 2019.
- ZEISEL, S. H. A Brief History of Choline. **Annals of Nutrition & Metabolism**. v. 61, p. 254 – 258, 2012.
- ZHAO, F.; LI, R.; LIU, Y.; CHEN, H. Perspectives on lecithin from egg yolk: Extraction, physicochemical properties, modification, and applications. **Frontiers in Nutrition**. v. 9, 1082671, 2023.

ZHOU, Y. S.; LIU, Y.; ZHU, G.; LIN, Z. H.; PAN, C.; JING, Q.; WANG, Z. L. In Situ Quantitative Study of Nanoscale Triboelectrification and Patterning. **Nano Lett.** v. 13, p. 2771 – 2776, 2013.

ZHOU Z., DUNN C., KHADRA I., WILSON C. G., HALBERT G. W. Influence of physiological gastrointestinal surfactante ratio on the equilibrium solubility of BCS Class II drugs investigates using a four component mixture design. **Molecular Pharmaceutics.** v. 14, p. 4132-4144, 2017.

ZORATTO, N.; GRILLO, I.; MATRICARDI, P.; DREISS, C. A. Supramolecular gels of cholesterol-modified gellan gum with disc-like and worm-like micelles. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 556, p. 301 – 312, 2019.

APÊNDICE A – Análises Reológicas das soluções estoques

Modo rotacional: Curvas de fluxo

A Tabela 19 apresenta os valores de viscosidade no platô (η_0) para as soluções estoques de Lecitina, NaTDC, NaDC e NaC. Todas as soluções apresentaram valores de viscosidade muito baixos, indicando que há pouca ou nenhuma formação e entrelaçamento de agregados. Dentre os sais utilizados, o NaC foi o que apresentou o maior valor de η_0 enquanto o sal NaTDC apresentou o menor valor.

Tabela 19: Valores obtidos de viscosidade no platô (zero shear) para as soluções estoques de Lecitina 200 mM, NaTDC 100 mM, NaDC 100 mM e NaC 100 mM.

Solução	η_0 (Pa s)
Lecitina 200 mM	$9,25 \times 10^{-2}$
NaTDC 100 mM	$4,78 \times 10^{-2}$
NaDC 100 mM	$7,89 \times 10^{-2}$
NaC 100 mM	$9,46 \times 10^{-2}$

Modo oscilatório: varredura de frequências

A Figura 35 dispõem os dados obtidos para os ensaios dinâmicos das soluções estoques dos três sais utilizados, bem como da lecitina. É possível notar que, todas as soluções estoques são pouco viscoelásticas, visto que os módulos de armazenamento (G') possuem baixos valores e acompanham os valores do módulo de perda (G''). Deste modo, se torna possível analisar a influência na formação de agregados pelos sais com a lecitina e de que forma a adição de PEG ou PG modifica estes agregados.

Figura 35: Ensaio dinâmico para as soluções estoque de (♦) Lecitina 200 mM; (■) NaTDC 100 mM; (●) NaDC 100 mM e (▲) NaC 100 mM. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G''

