

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

BRENDA DA SILVA BEGA

**AUTOAGREGADOS DE LECITINA E SAIS DE BILE NA PRESENÇA DE
CARBOXIMETILQUITOSANA**

SOROCABA -SP
2026

BRENDA DA SILVA BEGA

**AUTOAGREGADOS DE LECITINA E SAIS DE BILE NA PRESENÇA DE
CARBOXIMETILQUITOSANA**

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

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

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

Bega, Brenda da Silva

Autoagregados de lecitina e sais de bile na presença de carboximetilquitosana / Brenda da Silva Bega -- 2026. 98f.

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

1. Autoagregação de biossurfactantes. 2. Carboximetilquitosana. 3. Reologia. I. Bega, Brenda da Silva. 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

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Brenda da Silva Bega, realizada em 04/02/2026.

Comissão Julgadora:

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

Prof. Dr. Adriano Lopes de Souza (UFSCar)

Profa. Dra. Lucimara Lopes da Silva (UTFPR)

À Deus, por tudo o que sou. Aos meus pais, Marilsa e Adilson, e minha irmã, Bruna, pelo amor e apoio incondicional. Dedico este trabalho a cada pessoa que, de alguma forma, deixou em mim um aprendizado, uma força ou um afeto, contribuindo para que eu chegasse até este momento.

AGRADECIMENTO

À Deus, minha eterna gratidão. Obrigada por me sustentar em cada passo, por me dar forças quando pensei em desistir e por me cercar de amor, fé e esperança. Cada conquista vivida até aqui é, antes de tudo, uma bênção concedida por Ti.

Aos meus pais, Marilsa e Adilson, não há palavras suficientes para expressar minha gratidão. Obrigada por todo amor, dedicação, por cada gesto de cuidado e por acreditarem em mim mesmo quando eu mesma duvidei. Obrigada por segurarem minha mão, por estarem presentes em todos os momentos e por me ensinarem o verdadeiro significado de apoio incondicional. Vocês são meu porto seguro e grande parte do que sou devo a vocês. Amo muito vocês!

À minha irmã Bruna, minha melhor amiga e confidente, obrigada por sempre estar ao meu lado com tanto carinho, por me apoiar nos dias difíceis, por cada palavra de incentivo e por nunca deixar de acreditar em mim. Seu amor é um presente na minha vida. Amo muito você!

Ao meu amado cachorrinho Bidu, que hoje mora no meu coração como uma lembrança doce e eterna. Obrigada por ter sido luz nos meus dias, por me fazer sorrir nas horas mais difíceis e por me ensinar tanto sobre amor puro e verdadeiro. Sentirei sua falta para sempre.

Ao Cooky, que com seu carinho, companhia e alegria tornou o último ano do mestrado mais leve e cheio de amor. Você foi meu conforto nos dias difíceis e minha alegria em todos os outros. Amo muito você!

A toda a minha família, avós, tios, tias, primos, primas e cunhado, agradeço pelo apoio, orações e palavras de incentivo. Cada demonstração de carinho fez toda a diferença nessa jornada. Amo vocês!

Especialmente, à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Kelly Francisco, meu profundo agradecimento por me acolher no LabES² e por confiar em mim desde o início. Obrigada por sua paciência, generosidade, comprometimento e por ser um exemplo de dedicação à ciência e à docência. Seus ensinamentos ultrapassaram os limites do laboratório e deixaram marcas profundas na profissional que desejo ser.

Aos membros do LabES², meu sincero agradecimento por cada troca, conversa, apoio e colaboração e, sobretudo, pelas risadas que tornaram essa jornada mais leve. Vocês são demais!

Aos meus amigos Ana Paula, Bianca, Camila, Cássia, Davi, Gabriela e Jonatas, agradeço pela companhia ao longo dessa jornada, pelo apoio nas diferentes fases do mestrado e por celebrarem comigo cada conquista. A convivência com vocês tornou esse caminho ainda mais significativo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM-So), minha gratidão pela oportunidade de crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço a todos os docentes pelas disciplinas e compartilhamento de conhecimentos. Ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) e sua diretoria, pela estrutura oferecida para a realização desta pesquisa. Aos técnicos de laboratório pela realização das análises de DRX e FTIR, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. E ao Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (UNICAMP), pela contribuição com a disponibilização do reômetro.

Esta pesquisa utilizou instalações do Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), uma Organização Social supervisionada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). A equipe da instalação BFM é reconhecida pela assistência durante os experimentos (Proposta: 20251475).

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

A todos que, de alguma forma, caminharam ao meu lado, meu muito obrigada.

“Para que todos vejam, e saibam, e considerem, e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isto, e o Santo de Israel o criou”.

(Isaías 41:20)

RESUMO

BEGA, Brenda da Silva. Autoagregados de Lecitina e Sais de Bile na Presença de Carboximetilquitosana. 2026. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2026.

A modulação de sistemas autoassociados por polímeros desempenha papel fundamental no desenvolvimento de formulações coloidais, possibilitando o controle de suas propriedades reológicas e estruturais. Este trabalho investigou a influência da carboximetilquitosana (CMQ) sobre sistemas formados por lecitina e sal de bile, colato de sódio (NaC), deoxicolato de sódio (NaDC) ou taurodeoxicolato de sódio (NaTDC), em meio aquoso. A CMQ foi sintetizada por três metodologias e caracterizada por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios X (DRX). A amostra CMQ-M1 foi selecionada por apresentar maior rendimento (52,75%), bandas mais intensas associadas aos grupos carboximetila e maior cristalinidade (55,60%). Os sistemas binários sal de bile/lecitina foram preparados nas proporções 1:1 e 1:2, seguidos da adição de CMQ-M1 nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0% (m/m). A influência do polímero foi avaliada por espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial zeta e ensaios reológicos. Os resultados mostraram que a CMQ interage de forma dependente da natureza química do sal de bile e da proporção entre os componentes. Os resultados demonstraram que o comportamento desses sistemas é fortemente dependente das diferenças estruturais entre os sais de bile. Nos sistemas com NaC, a CMQ aumentou o módulo do potencial zeta e alterou o tamanho dos agregados, indicando maior estabilidade coloidal. Nos sistemas com NaDC, reduziu o potencial zeta, favorecendo agregação e desestruturação da rede viscoelástica. Nos sistemas com NaTDC, resultou em altos valores de potencial zeta, reorganizações estruturais e aumento da viscosidade, especialmente na proporção 1:1, onde 2% de CMQ levou à separação de fases. De modo geral, os resultados demonstram que a CMQ é um polímero eficiente para modular as propriedades estruturais, reológicas e de estabilidade de sistemas coloidais à base de lecitina e sais de bile. Esses resultados indicam o potencial desses sistemas para aplicações na área farmacêutica, como formulações e sistemas de liberação controlada de fármacos.

Palavras-chave: biossurfactantes; carboximetilquitosana; sistemas coloidais; morfologia; reologia.

ABSTRACT

BEGA, Brenda da Silva. Autoaggregates of Lecithin and Bile Salts in the Presence of Carboxymethyl Chitosan. 2026. Master in Material Science – Federal University of Sao Carlos, Sorocaba, 2026.

The modulation of self-associated systems by polymers plays a fundamental role in the development of colloidal formulations, enabling control over their rheological and structural properties. This work investigated the influence of carboxymethyl chitosan (CMQ) on systems formed by lecithin and the bile salts, sodium cholate (NaC), sodium deoxycholate (NaDC) or sodium taurodeoxycholate (NaTDC), in aqueous medium. CMQ was synthesized by three methodologies and characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). The CMQ-M1 sample was selected for presenting the highest yield (52.75%), more intense bands associated with carboxymethyl groups, and higher crystallinity (55.60%). Binary bile salt/lecithin systems were prepared at 1:1 and 1:2 ratios, followed by the addition of CMQ-M1 at concentrations of 0.5, 1.0, and 2.0% (w/w). The influence of the polymer was evaluated by dynamic light scattering (DLS), zeta potential, and rheological assays. The results showed that CMQ interacts in a manner dependent on the chemical nature of the bile salt and the ratio between the components. The results demonstrated that the behavior of these systems is strongly dependent on the structural differences among the bile salts. In systems containing NaC, CMQ increased the magnitude of the zeta potential and altered aggregate size, indicating greater colloidal stability. In systems containing NaDC, it reduced the zeta potential, favoring aggregation and disruption of the viscoelastic network. In systems containing NaTDC, it resulted in high zeta potential values, structural reorganizations, and increased viscosity, especially at the 1:1 ratio, where 2% CMQ led to phase separation. Overall, the results demonstrate that CMQ is an efficient polymer for modulating the structural, rheological, and stability properties of lecithin- and bile salt-based colloidal systems. These findings indicate the potential of these systems for pharmaceutical applications, such as formulations and controlled drug delivery systems.

Keywords: biosurfactants; carboxymethyl chitosan; colloidal systems; morphology; rheology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplos de estruturas formadas pela autoagregação de moléculas de surfactante em solução	19
Figura 2 – Representação de uma possível estrutura supramolecular formada por lecitina e sal de bile em água	21
Figura 3 – Representação esquemática de uma estrutura de sal de bile	23
Figura 4 – Estrutura molecular da lecitina	26
Figura 5 – Estrutura molecular da quitosana	28
Figura 6 – Produtos gerados pela carboximetilação da quitosana	30
Figura 7 – Representação da possível estrutura formada pela autoagregação das moléculas de lecitina e sal de bile em água na presença de carboximetilquitosana	32
Figura 8 – Amostra sujeita a uma tensão de cisalhamento com pequena deformação	33
Figura 9 – Modelo de placas paralelas exemplificando uma perturbação mecânica produzida por uma determinada força de cisalhamento	34
Figura 10 – Aspecto macroscópico das carboximetilquitosanas obtidas neste estudo. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3.....	42
Figura 11 – Espectros de infravermelho (IR) das CMQs sintetizadas. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3.....	44
Figura 12 – Difratoograma de raios-X das CMQs sintetizadas. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3	45
Figura 13 – Esquema da reação de carboximetilação da quitosana, envolvendo a formação da quitosana alcalina e sua reação com ácido monocloroacético para obtenção da carboximetilquitosana	46
Figura 14 – Estrutura molecular da N,O-carboximetilquitosana	49
Figura 15 – Sistemas formados por NaC/Lecitina. (A) 1:2 NaC/Lecitina; (B) 1:2 NaC/Lecitina	

– 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaC/Lecitina; (F) 1:1 NaC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaC/Lecitina – 2% CMQ.....53

Figura 16 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaC e lecitina.....55

Figura 17 – Curva de fluxo dos sistemas compostos por NaC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias.58

Figura 18 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias60

Figura 19 – Sistemas formados por NaDC/Lecitina. (A) 1:2 NaDC/Lecitina; (B) 1:2 NaDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaDC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaDC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaDC/Lecitina; (F) 1:1 NaDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaDC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaDC/Lecitina – 2% CMQ.....63

Figura 20 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaDC e lecitina.....64

Figura 21 – Estruturas química dos sais de bile estudados nesse trabalho, NaC, NaDC e NaTDC67

Figura 22 – Curva de fluxo dos sistemas compostos por NaDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias68

Figura 23 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaDC/Lecitina, sendo (■) controle;

(●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias70

Figura 24 – Sistemas formados por NaTDC/Lecitina. (A) 1:2 NaTDC/Lecitina; (B) 1:2 NaTDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaTDC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaTDC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaTDC/Lecitina; (F) 1:1 NaTDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaTDC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaTDC/Lecitina – 2% CMQ72

Figura 25 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaTDC e lecitina73

Figura 26 – Curva de fluxo dos sistemas 1:2 NaTDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. (A) primeira medição, (B) segunda medição e (C) terceira medição75

Figura 27 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaTDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaTDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaTDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias77

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Estruturas dos sais biliares utilizados neste estudo, diferenciadas pelos grupos R ₁ e R ₂ conforme o tipo de conjugação, e valores aproximados de cmc primária e pK _a a 20 °C ..	24
Tabela 1 – Valores de CPP relacionados aos tipos de agregados que serão formados.....	20
Tabela 2 – Rendimento de cada metodologia reproduzida.....	43
Tabela 3 – Tempos de escoamento e cálculo das viscosidades para soluções de CMQ em água	48
Tabela 4 – Valores de ΔV e Grau de Substituição (DS) da CMQ-M1 pela Titulação Potenciométrica.....	49
Tabela 5 – Proporções de sal de bile, lecitina e polímero que foram utilizados na formação dos agregados	51
Tabela 6 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%).....	56
Tabela 7 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a 0,01 s ⁻¹ para os sistemas NaC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento	59
Tabela 8 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%).....	66
Tabela 9 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a 0,01 s ⁻¹ para os sistemas NaDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento	69
Tabela 10 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaTDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%).....	74
Tabela 11 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a 0,01 s ⁻¹ para os sistemas NaTDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento. FS corresponde à Fase Superior e FI à Fase Inferior da amostra com separação de fases	77

LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS E SIGLAS

η_{ap} – Viscosidade aparente

τ_R – Tempo de relaxação

$[\eta]$ – Viscosidade intrínseca

cmc – Concentração Micelar Crítica

CMQ – Carboximetilquitosana

COD – Crystallography Open Database

CPP – Parâmetro de empacotamento crítico (*critical packing parameter*)

DLS – Espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic Light Scattering*)

DRX – Difração de Raios-X

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

g – Grama

G' – Módulo de armazenamento

G'' – Módulo de perda

G_0 – Módulo no platô

HCl – Ácido clorídrico

Hz – Hertz

IC – Índice de cristalinidade

keV – Quiloelétron-volt

L – Litro

mL – Mililitro

mM – Concentração Milimolar

mm – Milímetro

M_v – Massa molar média viscosimétrica

mV – Milivolt

NaC – Colato de sódio

NaCl – Cloreto de sódio

NaDC – Deoxicolato de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

NaTDC – Taurodeoxicolato de sódio

nm – Nanômetro

° – Grau

°C – Graus Celsius

Pa – Pascal

Pa.s – Pascal segundo

PZ – Potencial Zeta

rpm – Rotação por minuto

s – Segundo

η_0 – Viscosidade de repouso

η_{red} – Viscosidade reduzida

η_{rel} – Viscosidade relativa

η_{sp} – Viscosidade específica

τ – Tensão Aplicada

$\dot{\gamma}$ – Taxa de cisalhamento

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	17
1.1 INTRODUÇÃO	17
1.2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
1.2.1 <i>Sistemas autoagregados e surfactantes</i>	18
1.2.2 <i>Sais de Bile</i>	22
1.2.3 <i>Lecitina</i>	25
1.2.4 <i>Carboximetilquitosana a partir da reação de carboximetilação da quitosana</i> ...27	
1.2.5 <i>Reologia</i>	33
1.3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	36
1.4 OBJETIVO GERAL	36
1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
CAPÍTULO 2 – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA CARBOXIMETILQUITOSANA	38
2.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	38
2.1.1 <i>Materiais</i>	38
2.1.2 <i>Preparo das amostras</i>	38
2.1.2.1 <i>Metodologia I</i>	38
2.1.2.2 <i>Metodologia II</i>	39
2.1.2.3 <i>Metodologia III</i>	39
2.1.3 <i>Caracterização das amostras</i>	40
2.1.3.1 <i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>40	
2.1.3.2 <i>Difração de Raios-X (DRX)</i>	40
2.1.3.3 <i>Determinação da Massa Molar Viscosimétrica</i>	40
2.1.3.4 <i>Determinação do Grau de Substituição (DS)</i>	41
2.1.3.5 <i>Determinação da Concentração de NaCl – Método de Mohr</i>	42
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
2.2.1 <i>Aspectos Visuais e Rendimento das Sínteses</i>	42
2.2.2 <i>Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	44
2.2.3 <i>Análise por Difração de Raios-X (DRX)</i>	45
2.2.4 <i>Determinação da Massa Molar Viscosimétrica da CMQ-MI</i>	48
2.2.5 <i>Grau de Substituição (DS) da CMQ-MI</i>	49
2.2.6 <i>Determinação da Concentração de NaCl – Método de Mohr</i>	50

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA CARBOXIMETILQUITOSANA EM SISTEMAS COLOIDAIS COM LECITINA E SAIS DE BILE	51
3.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	51
3.1.1 <i>Materiais</i>	51
3.1.2 <i>Preparo das amostras</i>	51
3.1.3 <i>Caracterização dos Sistemas Autoagregados</i>	52
3.1.3.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta	52
3.1.3.2 Reologia	52
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
3.2.1 <i>Sistemas com Colato de Sódio (NaC)</i>	53
3.2.1.1 Aspectos Visuais	53
3.2.1.2 Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas	55
3.2.1.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaC/Lecitina	56
3.2.1.4 Análise reológica dos autoagregados de NaC/Lecitina	57
3.2.2 <i>Sistemas com Deoxicolato de Sódio (NaDC)</i>	63
3.2.2.1 Aspectos Visuais	63
3.2.2.2 Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas	64
3.2.2.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaDC/Lecitina	66
3.2.2.4 Análise reológica dos autoagregados de NaDC/Lecitina	68
3.2.3 <i>Sistemas com Taurodeoxicolato de Sódio (NaTDC)</i>	71
3.2.3.1 Aspectos Visuais	72
3.2.3.2 Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas	73
3.2.3.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaTDC/Lecitina	74
3.2.3.4 Análise reológica dos autoagregados de NaTDC/Lecitina	75
3.2.4 <i>Efeito da Estrutura dos Sais de bile na Interação com a Carboximetilquitosana</i>	79
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	81
4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
4.2 PERSPECTIVAS FUTURAS	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
APÊNDICE A – Análises Reológicas das soluções estoque	98

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução, Fundamentação teórica, justificativa do estudo e objetivos

1.1 INTRODUÇÃO

Os avanços na ciência dos materiais têm impulsionado o desenvolvimento de tecnologias em escala nanométrica, viabilizando a consolidação da nanotecnologia (Ma *et al.*, 2024). Essa área interdisciplinar da ciência e da engenharia dedica-se ao estudo, manipulação e aplicação de materiais que possuem, pelo menos, uma dimensão na faixa de 1 e 100 nanômetros (nm) (Nasrollahzadeh *et al.*, 2019). Nessa escala, os materiais exibem propriedades físico-químicas distintas em comparação às suas formas macroscópicas, tais como propriedades ópticas alteradas dependentes do tamanho e forma (Goyal & Singh, 2020) e maior reatividade catalítica (Villalba-Rodríguez *et al.*, 2023), resultantes da elevada razão área superficial/volume e dos efeitos quânticos associados ao confinamento de cargas e energia (Ahire *et al.*, 2022).

Nesse contexto, a química coloidal estuda materiais e sistemas cujas dimensões estão entre as escalas nanométrica e micrométrica. Esses sistemas são compostos por partículas, agregados ou estruturas supramoleculares, e são fortemente influenciados por fenômenos interfaciais, interações intermoleculares e pela estabilidade termodinâmica das fases presentes, em decorrência de suas dimensões reduzidas, as interfaces nesses sistemas tornam-se energeticamente dominantes, de modo que fenômenos como adsorção, tensão interfacial e dupla camada elétrica determinam o comportamento macroscópico observado (Al Harraq & Bharti, 2021). De modo geral, englobam tanto sistemas auto-organizados, como micelas, vesículas, monocamadas, microemulsões, cristais líquidos, polímeros sintéticos e biopolímeros, quanto sistemas metaestáveis, incluindo dispersões de partículas, emulsões e espumas (García-Rio; Basílio, 2019).

A formação de estruturas auto-organizadas, como micelas, vesículas e agregados supramoleculares, ocorre a partir da associação espontânea de moléculas anfifílicas, como surfactantes, em meio aquoso por meio de interações específicas, tais como forças de Van der Waals, interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio (Percebom *et al.*, 2018; Alam *et al.*, 2010; Ito *et al.*, 2015; Zoratto *et al.*, 2019). Essa capacidade de organização na nanoescala é essencial para o desenvolvimento de nanomateriais funcionais e de sistemas coloidais com aplicações estratégicas em diversas áreas (Aaen *et al.*, 2019; Mekkaoui *et al.*, 2021; Zhang, H. *et al.*, 2021).

A relevância científica e tecnológica deste estudo está associada ao desenvolvimento de sistemas supramoleculares formados por lecitina, sais de bile e carboximetilquitosana (CMQ)

para uso como plataforma de encapsulação de moléculas de interesse, como fármacos. Embora os mecanismos de autoagregação em sistemas binários sal de bile/lecitina em fase aquosa já sejam bem documentados (Cussler & Duncan, 1972; Mazer; Benedek; Carey, 1980; Jain *et al.*, 1992; Schwarz *et al.*, 1998; Castro *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2017; Markina, *et al.*, 2017 Abbas *et al.*, 2022), a introdução da CMQ surge como uma estratégia promissora para modular as propriedades físico-químicas, estruturais e reológicas desses materiais. A incorporação da CMQ pode conferir maior estabilidade aos agregados coloidais, controle sobre o comportamento viscoelástico e possibilidades adicionais de funcionalização, ampliando o potencial de aplicação desses sistemas, especialmente na área farmacêutica, como plataformas de liberação controlada e carreadores de fármacos (Zhu *et al.*, 2007).

A escolha da CMQ fundamenta-se em suas propriedades, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, solubilidade em água e atividade bioativa, principalmente, antimicrobiana e mucoadesiva (Shariatnia, 2018), características que agregam valor funcional aos sistemas desenvolvidos. Assim, este estudo contribui tanto para o avanço do conhecimento fundamental em ciência dos materiais e química coloidal, quanto para o desenvolvimento de sistemas funcionais com elevado potencial de aplicação na indústria farmacêutica e em outras áreas tecnológicas.

Para fins de organização, o estudo foi dividido em quatro capítulos: o Capítulo 1 aborda as considerações gerais do trabalho por meio da fundamentação teórica, objetivo e justificativa do trabalho. O Capítulo 2 descreve as metodologias empregadas, incluindo os procedimentos de síntese da CMQ e as técnicas de caracterização utilizadas. O Capítulo 3 discute os resultados relacionados à influência da CMQ em sistemas coloidais formados por lecitina e diferentes sais de bile, a partir das análises de propriedades reológicas, espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta. Por fim, o Capítulo 4 apresenta as considerações finais e as perspectivas futuras decorrentes deste estudo.

1.2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.2.1 *Sistemas autoagregados e surfactantes*

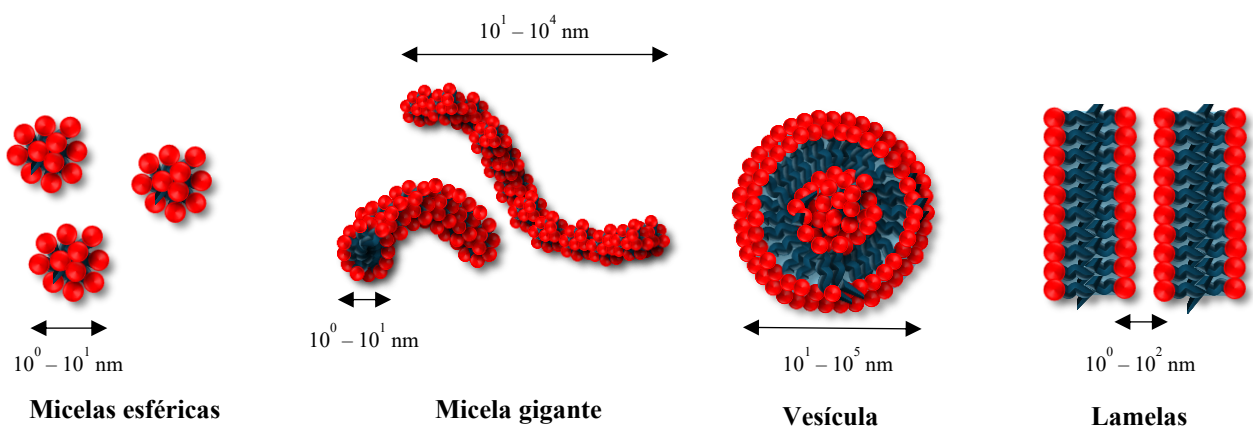
De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), o termo *colóide* está relacionado a uma subdivisão no qual moléculas individuais ou agregados polimoleculares encontram-se dispersos em um meio contínuo, apresentando ao menos uma dimensão compreendida entre 1 e 100 nm. Esses sistemas podem ser classificados, de forma geral, em dois grupos principais, com base na afinidade das partículas dispersas com o meio dispersante: os colóides *liofílicos* e os colóides *liofóbicos*. Os colóides *liofílicos* apresentam

elevada afinidade com o solvente, o que permite sua formação espontânea quando as fases são colocadas em contato, sendo, portanto, considerados sistemas termodinamicamente estáveis. Em contraste, os coloides liofóbicos possuem baixa afinidade com o meio dispersante, não se formam espontaneamente e, por essa razão, são termodinamicamente instáveis, favorecendo processos como a agregação das partículas ou a separação de fases (Sabadini, 2024).

Dentre os constituintes importantes de sistemas coloidais estão os surfactantes, ou tensoativos, que são moléculas anfifílicas capazes de reduzir a tensão interfacial ou superficial entre fases distintas, como líquido-líquido, líquido-gás ou sólido-líquido. Em baixas concentrações, essas moléculas tendem a se acumular nas interfaces do sistema, promovendo a diminuição da energia livre de Gibbs (Holmberg *et al.*, 2002). Por essa razão, os surfactantes são amplamente utilizados em diversas aplicações, atuando como emulsificantes, agentes dispersantes e modificadores de superfície, entre outros (Felipe; Dias, 2017).

Quando a quantidade de surfactante em uma solução é suficiente para saturar as interfaces, ocorre a formação espontânea de agregados moleculares no interior do meio dispersante. A concentração mínima necessária para o início da formação desses agregados supramoleculares é denominada concentração micelar crítica (cmc) (Holmberg *et al.*, 2002). A cmc é uma propriedade específica de cada tipo de surfactante e pode ser influenciada por fatores como a temperatura e a presença de eletrólitos no meio (Al-Soufi; Novo, 2021). Acima da cmc, os surfactantes tendem a se autoassociar formando estruturas organizadas, cuja natureza depende das condições físico-químicas do sistema. Entre essas estruturas, destacam-se micelas esféricas, micelas cilíndricas, vesículas, lipossomas, lamelas e fases do tipo gel, que podem se organizar em arranjos ordenados ou desordenados, conforme ilustrado na Figura 1 (Minatti; Zanette, 1996; O’Rear III, 2015; Bukiet *et al.*, 2012).

Figura 1 – Exemplos de estruturas formadas pela autoagregação de moléculas de surfactante em solução



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

A morfologia desses agregados está diretamente relacionada ao modo como as moléculas anfifílicas se organizam, o que pode ser previsto por meio do parâmetro de empacotamento crítico (*critical packing parameter* – CPP), expresso por v/al , em que v é o volume da região apolar, a é a área da parte polar e l é o comprimento da cadeia hidrocarbônica (Dreiss, 2007; Acharya; Kunieda, 2006). A Tabela 1 apresenta a correlação entre os valores de CPP e os tipos de estruturas formadas, evidenciando como pequenas variações nas propriedades moleculares dos surfactantes podem levar à formação de agregados com geometrias distintas.

Tabela 1 – Valores de CPP relacionados aos tipos de agregados que serão formados

CPP	Geometria do Agregado
$v/al < 1/3$	Micelas Esféricas
$1/3 < v/al < 1/2$	Hexagonal
$v/al \approx 1/2$	Micelas Cilíndricas
$1/2 < v/al < 1$	Vesículas ou Bicamadas
$v/al \approx 1$	Lamelar
$v/al \geq 1$	Cúbica
$v/al > 1$	Micelas Reversas

Fonte: Autoria Própria. Adaptado de Holmberg *et al.* (2002).

As estruturas ilustradas na Figura 1 são típicas de sistemas em solventes polares, como a água, nos quais a força motriz para a agregação das moléculas é predominantemente atribuída às interações hidrofóbicas. Nessas condições, as regiões polares das moléculas anfifílicas, denominadas cabeças, permanecem orientadas em contato com o solvente, enquanto as regiões apolares (caudas hidrofóbicas) se associam no interior dos agregados, formando núcleos protegidos da fase aquosa (Holmberg *et al.*, 2002). Em contrapartida, em meios apolares ou orgânicos, a autoassociação dos surfactantes ocorre de maneira invertida: as cabeças polares se localizam no centro da micela, enquanto as caudas hidrofóbicas interagem com o solvente orgânico circundante, configurando uma estrutura denominada micela reversa (Schurtenberger *et al.*, 1990).

Os biossurfactantes são compostos de origem natural produzidos por diversos organismos, como plantas, fungos e bactérias, além de estarem presentes no metabolismo de alguns organismos superiores, incluindo o ser humano (Nitschke; Pastore, 2002). Esses compostos apresentam natureza anfifílica, possuindo regiões hidrofílica e hidrofóbica em sua estrutura molecular. Entre as principais vantagens associadas aos biossurfactantes destacam-se sua elevada eficiência na redução da tensão superficial em baixas concentrações, sua biodegradabilidade, baixa toxicidade e notável estabilidade frente a variações de temperatura, pH e salinidade. Além disso, apresentam ampla diversidade estrutural e funcional, sendo

Fonte: Autoria Própria

Do ponto de vista tecnológico, essas estruturas apresentam um comportamento peculiar, uma vez que esses agregados não sofrem degradação mecânica, como acontece com as soluções poliméricas sob fluxo turbulento (Fukushima *et al.*, 2022; Souza *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2021). Além disso, pode-se modificar a conformação, o tamanho e a flexibilidade dessas estruturas por meio da alteração da energia térmica, devido à complexidade das interações intermoleculares existentes entre os componentes da fase (Sabadini; Francisco; Bouteiller, 2010; Lv *et al.*, 2021; Fu *et al.*, 2021). A adição de moléculas, como poliméricas, também podem alterar a dinâmica desses agregados em solução, modificando suas estruturas e, conseqüentemente, suas propriedades reológicas (Francisco *et al.*, 2012; Francisco *et al.*, 2010).

A quitosana é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, sendo obtida por meio da quitina presente nos exoesqueletos de crustáceos e insetos, ou na parede celular de cogumelos (Riva *et al.*, 2011; Sarti & Bernkop-Schnurch, 2011). Devido as suas propriedades biológicas como a biodegradabilidade, ação antibacteriana, biocompatibilidade e não toxicidade, ela tem sido amplamente empregada nas áreas farmacêutica e biomédica (Lertsutthiwong *et al.*, 2012; Sivanesan *et al.*, 2021; Choi; Nam; Nah, 2016). A quitosana pode ser quimicamente modificada nos grupos amino livres ou por meio das hidroxilas presentes ao longo de sua cadeia principal, visando a superação da solubilidade limitada e a eficácia da quitosana em soluções com valores de pH neutro. A carboximetilquitosana (CMQ) é obtida a partir da modificação da quitosana, sendo um polímero hidrofílico capaz de interagir com diferentes substâncias e em uma faixa de pH mais ampla comparada com a quitosana (Zhu *et al.*, 2007; Abreu & Campana-Filho, 2009). A adição desse polímero nas estruturas formadas por sal de bile e lecitina poderia atribuir maior resistência mecânica ao material, o que possibilitaria a formação de estruturas mais estáveis e robustas. Essa junção também poderia potencializar a capacidade de encapsulação e liberação controlada de fármacos, ampliando as possibilidades de aplicação do material (Zhu *et al.*, 2007).

1.2.2 Sais de Bile

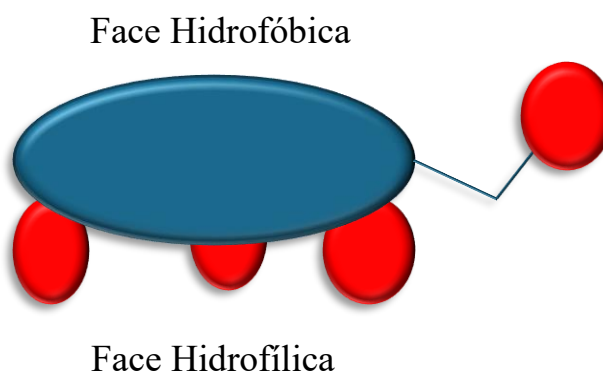
Os sais de bile são surfactantes naturais aniônicos derivados de ácidos biliares conjugados que formam complexos com sódio. Esses sais correspondem a sais de ácidos fracos, cujos valores de pKa situam-se na faixa de 4,2 a 7,3 (Yu; Quirino, 2021). Os ácidos biliares primários, como o ácido cólico e o ácido quenodeoxicólico, são sintetizados pelo fígado a partir do colesterol, por meio de uma sequência enzimática complexa (Donkers; Abbing; Van de Graaf, 2019). Essas enzimas modificam os anéis esteroidais do colesterol, clivam suas cadeias

laterais e, por fim, conjugam a cauda ácida formada com taurina ou glicina, o que aumenta sua hidrofiliçidade. No intestino, a microbiota converte esses ácidos biliares primários em formas secundárias, como o ácido deoxicólico e o ácido litocólico (Can; Tyler; Mackie, 2021).

Os ácidos biliares primários, após serem conjugados com aminoácidos como a taurina ou a glicina, são transportados pelos hepatócitos para o espaço canalicular por meio de uma proteína de exportação, marcando o início da secreção biliar. Os sais de bile representam os principais solutos presentes na bile, que também é composta por proteínas, bilirrubina, colesterol e fosfolipídios (Guruge *et al.*, 2023). No ambiente biliar, os sais de bile e os fosfolipídios se organizam em estruturas supramoleculares denominadas micelas, que desempenham um papel fundamental na neutralização dos efeitos detergentes dos sais biliares sobre os colangiócitos. Além disso, essas micelas possibilitam a solubilização do colesterol, evitando sua precipitação e, conseqüentemente, a formação de cristais e cálculos biliares. Após sua formação no fígado, a bile é armazenada temporariamente na vesícula biliar e, durante a digestão, é liberada no intestino delgado. Nesse local, sua ação é essencial para a emulsificação e absorção de lipídeos, colesterol, ácidos graxos, monoglicerídeos e vitaminas lipossolúveis (Donkers; Abbing; Van de Graaf, 2019; Groenen *et al.*, 2024; Di Gregorio; Cautela; Galantini, 2021; Paul; Balaram, 1978; Wiedmann; Liang; Kamel, 2002).

Os sais de bile são moléculas anfipáticas que apresentam um núcleo esteroidal. A face côncava da molécula é hidrofílica, devido à presença de grupos hidroxila, enquanto a face convexa é predominantemente hidrofóbica por conter grupos metil (Singh; Chauhan, 2020). Essa assimetria confere aos sais de bile propriedades físico-químicas distintas em relação aos surfactantes convencionais do tipo “cabeça-cauda”, uma vez que sua estrutura rígida e esteroidal influencia diretamente seu comportamento em solução, Figura 3 (Guruge *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016; Jover *et al.*, 2021; Warren *et al.*, 2006).

Figura 3 – Representação esquemática de uma estrutura de sal de bile

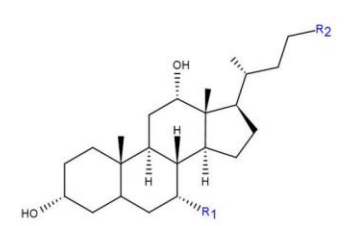


Os sais de bile interagem tanto por ligações de hidrogênio, que são diretas e específicas entre os grupos hidroxil e ácidos presentes nas suas estruturas, quanto por interações eletrostáticas de natureza repulsiva entre os agregados formados. Tais características promovem a formação de estruturas agregadas rígidas, mas que, ao mesmo tempo, apresentam sensibilidade a variações nas condições do meio, como pH, temperatura e força iônica, permitindo modificações estruturais relevantes em diferentes contextos físico-químicos (Mukherjee *et al.*, 2016; Jover *et al.*, 2021; Warren *et al.*, 2006; Madenci; Egelhaaf, 2010; Suys *et al.*, 2017).

Os sais biliares presentes no organismo humano podem ser organizados em três categorias, considerando-se tanto a presença ou ausência de conjugação com aminoácidos, quanto o número de grupos hidroxila em sua estrutura. Essa classificação inclui: (i) os sais biliares tri-hidroxilados conjugados, cuja composição é majoritariamente representada por taurocolato e glicocolato; (ii) os sais di-hidroxilados conjugados, como glicodeoxicolato, glicoenodeoxicolato, tauroquenodeoxicolato e taurodeoxicolato e (iii) os sais biliares não conjugados, como deoxicolato, colato e quenodeoxicolato. Essa distinção estrutural influencia diretamente as propriedades físico-químicas e biológicas desses compostos, como sua solubilidade, toxicidade e capacidade de emulsificação de lipídeos (Zughaid *et al.*, 2012).

Devido à sua estrutura anfifílica, os sais biliares apresentam a capacidade de formar agregados supramoleculares em soluções aquosas. A agregação ocorre de forma sequencial e progressiva. Acima da primeira cmc, formam-se micelas primárias com 2 a 10 monômeros. Com o aumento da concentração, essas micelas primárias se agregam formando micelas secundárias que podem conter de 10 até 100 monômeros. Esse processo de agregação em múltiplas etapas resulta em múltiplas cmc ao invés de um único valor bem definido, sendo a cmc expressa como uma faixa de concentração (Poša, 2023; Rovnyak *et al.*, 2023; Can; Tyler; Mackie, 2021). Além disso, os valores de cmc são influenciados por condições experimentais como temperatura, pH e força iônica do meio, bem como pelo método analítico empregado na determinação (condutividade elétrica, fluorescência, RMN, potenciometria, tensão superficial), o que explica as variações encontradas na literatura (Nakashima *et al.*, 2002; Eising *et al.*, 2008; Poša, 2023; Rovnyak *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016). As diferentes características estruturais e os valores de cmc primária e pKa desses sais são apresentados no Quadro 1 a seguir, permitindo uma comparação entre as propriedades físico-químicas de cada um deles.

Quadro 1 – Estruturas dos sais biliares utilizados neste estudo, diferenciadas pelos grupos R₁ e R₂ conforme o tipo de conjugação, e valores aproximados de cmc primária e pKa a 20 °C

	Sal de bile	R ₁	R ₂	cmc (mM)	pKa
	NaC	-OH	-COONa	7,8	5,0-6,0
	NaDC	-H	-COONa	3,8	5,0-6,0
	NaTDC	-H	-CONH(CH ₂) ₂ SO ₃ Na	1,9	1,0-2,0

Fonte: Adaptado de Kong *et al.* (2023); Mukherjee *et al.* (2016); Reshetnyak & Maev (2025).

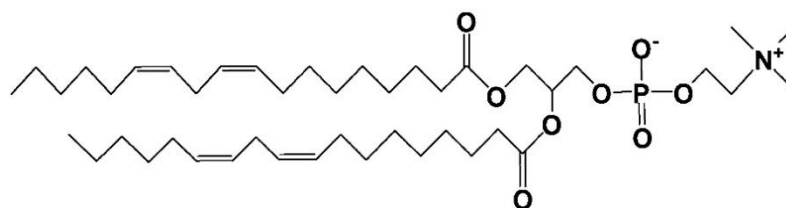
Essas moléculas anfífilas estão sendo intensamente investigadas devido a biocompatibilidade e a autoagregação em meio aquoso (Long; Kaler; Lee, 1994; Luk; Kaler; Lee, 1997; Mouaz *et al.*, 2001; Leng; Egelhaaf; Cates, 2003; Cheng; Wang; Tung, 2015). Muitos trabalhos mostram a formação de estruturas mistas de sais de bile entre si (Mukherjee *et al.*, 2016; Jover *et al.*, 2021), com surfactante gemini catiônico (Padasala *et al.*, 2016), surfactantes iônicos (Faustino *et al.*, 2014; Yadav; Parikh; Kumar, 2017), quitosana (Tangso *et al.*, 2014; Lameiro *et al.*, 2006a; Lameiro *et al.*, 2006b; Cadete *et al.*, 2012; Chebl *et al.*, 2016) e outros polímeros (Di Gregorio *et al.*, 2017; Pigliacelli *et al.*, 2019). Além de 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 (Long; Kaler; Lee, 1994; Luk; Kaler; Lee, 1997; Mouaz *et al.*, 2001; Leng; Egelhaaf; Cates, 2003; Egelhaaf; Schurtenberger, 1994; Pedersen; Egelhaaf; Schurtenberger, 1995; Egelhaaf; Schurtenberger, 1997; Egelhaaf; Muller; Schurtenberger, 1998; Arleth *et al.*, 2003; Madenci *et al.*, 2011). Neste estudo, foram empregados três tipos de sais de bile: colato de sódio (NaC), deoxicolato de sódio (NaDC) e taurodeoxicolato de sódio (NaTDC). A seleção desses compostos teve como objetivo investigar de que maneira diferentes estruturas químicas de sais de bile podem influenciar a formação e a organização de agregados supramoleculares em meio aquoso.

1.2.3 Lecitina

A lecitina, Figura 4, é um surfactante zwitteriônico natural descoberta no século XIX pelo cientista francês Théodore Nicolas Gobley, ao ser isolada da gema de ovo. O termo "lecitina" deriva do grego *lekithos*, que significa "gema", em referência à sua fonte original (Gutiérrez-Méndez; Chavez-Garay; Leal-Ramos, 2022; Wee *et al.*, 2023; Mangrulkar *et al.* 204). Ela é constituída majoritariamente por fosfolípidios, os quais representam os principais componentes de sua estrutura. Entre esses, destacam-se a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, esfingomiéline e fosfatidilglicerol. No entanto, a proporção relativa desses constituintes pode variar dependendo da sua fonte de origem e das condições geográficas e ambientais associadas à sua obtenção

(Gutiérrez-Méndez; Chavez-Garay; Leal-Ramos, 2022; Thy; Duy; Dat, 2025; Harasym; Banás, 2024). Lecitinas com alto teor de fosfatidilcolina são muito utilizadas em indústrias alimentícias e cosméticas devido as suas propriedades emulsificantes, antioxidantes e importante papel em processos de sinalização celular (Thy; Duy; Dat, 2025).

Figura 4 – Estrutura molecular da lecitina



Fonte: Autoria Própria

A lecitina pode ser extraída tanto de fontes vegetais quanto animais. Entre as fontes vegetais mais comuns destacam-se as sementes de soja, girassol, algodão, milho, colza, camelina, canola e farelo de arroz. Por outro lado, fontes de origem animal, como gema de ovo, produtos lácteos e organismos marinhos, também são empregadas na obtenção de lecitina (Gutiérrez-Méndez; Chavez-Garay; Leal-Ramos, 2022; Wee *et al.*, 2023; Thy; Duy; Dat, 2025; Harasym; Banás, 2024). A gema de ovo, em particular, é conhecida por apresentar elevado teor de lecitina (Zhao *et al.*, 2023), enquanto organismos marinhos são valorizados pela abundância e diversidade de fosfolípidios presentes em sua composição (Harasym; Banás, 2024). No entanto, a lecitina de soja permanece como a alternativa mais vantajosa tanto do ponto de vista econômico quanto para a formulação de lipossomas, devido à sua maior estabilidade oxidativa em comparação a lecitinas de outras origens, como de fonte animal. Lecitinas derivadas de ovos ou leite, por exemplo, apresentam elevados teores de ácidos graxos poli-insaturados, o que compromete a estabilidade dos lipossomas ao favorecer reações oxidativas. Ademais, essas fontes podem conter traços de proteínas ou agentes patogênicos, comprometendo a saúde humana. Dessa forma, a lecitina de origem vegetal, particularmente a de soja, permanece como a mais indicada para aplicações em sistemas coloidais e vesiculares (Zhao *et al.*, 2023; Le *et al.*, 2019).

A lecitina tem caráter zwitteriônico, distingue-se dos surfactantes convencionais por apresentar duas cadeias hidrofóbicas em sua estrutura, além de uma cabeça polar composta por fosfocolina. Uma das caudas pode conter insaturações do tipo *cis*, conferindo maior fluidez à estrutura molecular (Agrawal *et al.*, 2021). Devido conter em sua composição um esqueleto de glicerol esterificado com dois ácidos graxos e um grupo fosfato, ela exibe propriedades

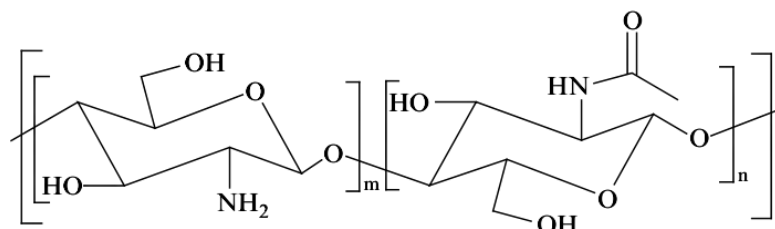
emulsificantes e estabilizantes, sendo amplamente utilizada em sistemas coloidais (Xue; Zhong, 2014). Em solventes orgânicos, as moléculas desse fosfolípido tendem a formar agregados do tipo micelas inversas, com morfologias esféricas ou elipsoidais (Walde *et al.*, 1990). Em meio aquoso, por sua vez, é capaz de formar estruturas lamelares ou lipossomas, dependendo das condições experimentais aplicadas (Cautela *et al.*, 2017). Devido a essas características estruturais e funcionais, a lecitina tem sido empregada em diversos estudos que envolvem a formação de agregados com sais biliares, com o objetivo de viabilizar a solubilização e o encapsulamento de compostos bioativos e fármacos, como colesterol, diclofenaco, nitrazepam, carvedilol e luteolina (Jain *et al.*, 1992; Schwarz *et al.*, 1998; Castro *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2017; Abbas *et al.*, 2022). Além disso, esses sistemas também têm servido como modelos para a investigação de processos biológicos, auxiliando na compreensão do comportamento de enzimas (Birru *et al.*, 2014; Neubrand; Carey; Laue, 2015; Okuro; Gomes; Cunha, 2020).

1.2.4 Carboximetilquitosana a partir da reação de carboximetilação da quitosana

A quitosana, Figura 5, é um polissacarídeo catiônico composto por monossacarídeos N-acetil-glucosamina e D-glucosamina conectados por meio de ligações glicosídicas. A obtenção da quitosana foi descrita pela primeira vez em 1859, quando o cientista Rouget verificou que o tratamento térmico da quitina em meio alcalino resultava em um material com solubilidade em soluções ácidas. Posteriormente, em 1894, Hoppe-Seyler denominou esse novo composto de "quitosana", embora sua estrutura química só tenha sido descoberta em 1950 (Shakil *et al.*, 2021; Ardean *et al.*, 2021). Como já mencionado, este biopolímero é obtido a partir da desacetilação parcial da quitina, um polissacarídeo estrutural amplamente encontrado na natureza (Yan *et al.*, 2021). As principais fontes de quitina incluem os exoesqueletos de crustáceos, como camarões, lagostas, krill e lagostins; moluscos, como lulas, polvos, ostras, amêijoas e caracóis; além de diversos insetos, como moscas, formigas, besouros, baratas e o bicho-da-seda. Esse biopolímero também está presente na parede celular de fungos filamentosos pertencentes aos filos Ascomycota, Basidiomycota e Zygomycota, incluindo os gêneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* e *Trichoderma* (Pellis; Guebitz; Nyanhongo, 2022; Bilbao-Sainz *et al.*, 2017; Koc *et al.*, 2020; Ban *et al.*, 2018; Alimi *et al.*, 2023; Nitschke *et al.*, 2011). Uma abordagem sustentável para sua produção envolve o aproveitamento de resíduos gerados pela indústria alimentícia marinha, contribuindo para a valorização de subprodutos e redução de impactos ambientais (Sivanesan *et al.*, 2021; El-Araby *et al.*, 2024). A conversão da quitina em quitosana ocorre por meio de um processo de desacetilação, no qual os grupos acetil das unidades de N-acetil-D-glucosamina são removidos (Riva *et al.*, 2011; Sarti & Bernkop-

Schnurch, 2011; Amorin-da-Silva *et al.*, 2024; Tanganini *et al.*, 2024). Diferente da quitina, a quitosana é solúvel em soluções ácidas, como de ácidos acético e cítrico (Koc *et al.*, 2020).

Figura 5 – Estrutura molecular da quitosana



Fonte: Autoria Própria

A classificação da quitosana pode ser feita com base em seu peso molecular, sendo geralmente dividida em três faixas principais: baixo (massa inferior a 100 kDa), médio (massa entre 100 e 1000 kDa) e alto peso molecular (massa superior a 1000 kDa) (Ardean *et al.*, 2021). Quitosanas de alto peso molecular, por exemplo, apresentam cadeias poliméricas mais longas e, conseqüentemente, maior número de grupos hidroxila disponíveis. Dois fatores que influenciam as propriedades desse biopolímero são o peso molecular e o grau de desacetilação, definido pela proporção entre as unidades de D-glucosamina e o total de unidades de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina presentes na cadeia polimérica (Shakil *et al.*, 2021; Ardean *et al.*, 2021). Quanto maior o grau de desacetilação e menor o peso molecular, maior tende a ser a solubilidade da quitosana (El-Araby *et al.*, 2024).

Por apresentar biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade e propriedades mucoadesivas, a quitosana tem sido amplamente empregada nas áreas farmacêutica e biomédica (Lertsutthiwong *et al.*, 2012; Sivanesan *et al.*, 2021; Choi; Nam; Nah, 2016; Koc *et al.*, 2020). Muitos trabalhos demonstram as potencialidades que a quitosana têm para a formulação de materiais, especialmente, como plataforma de liberação controlada de princípios ativos e fármacos (Ways; Lau; Khutoryanskiy, 2018; Zhou *et al.*, 2017; Giunchedi *et al.*, 1998), além de seu papel antitumoral (Ghadi *et al.*, 2014; Virmani *et al.*, 2023). Não foram encontrados trabalhos na literatura que estudaram sistemas autoagregados formados por sal de bile, lecitina e quitosana, sendo encontrados em maiores quantidades apenas materiais formados por lecitina/quitosana (Hafner *et al.*, 2011; Terron-Mejia *et al.*, 2018; Al-Remawi *et al.*, 2017) e sal de bile/quitosana (Tangso *et al.*, 2014; Lameiro *et al.*, 2006a; Lameiro *et al.*, 2006b; Cadete *et al.*, 2012; Chebl *et al.*, 2016). Estudos que envolveram a obtenção de materiais formados por lecitina e quitosana focaram em utilizá-los no encapsulamento de fármacos e moléculas de

interesse como melatonina (Hafner *et al.*, 2011), capsaicina (Terron-Mejia *et al.*, 2018) e insulina (Al-Remawi *et al.*, 2017). Os resultados obtidos nos trabalhos demonstraram que as estruturas formadas por lecitina e quitosana são promissoras para a entrega de medicamentos, haja vista que contribuem para a biodisponibilidade e biodistribuição dos fármacos.

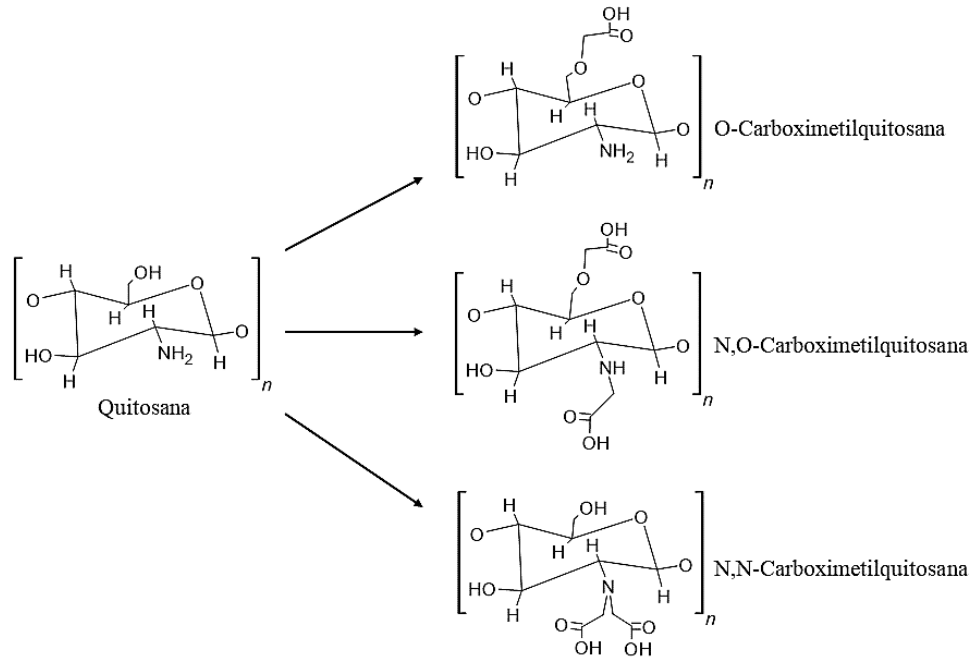
Tangso e colaboradores (2014) avaliaram o potencial de liberação controlada de fármacos de cápsulas nanoestruturas compostas por taurodeoxicolato de sódio e quitosana. Eles descobriram que, ao variar a temperatura e a concentração de NaTDC, as interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre os componentes influenciam a nanoestrutura líquido-cristalina formada. Além disso, em fase lamelar, os sistemas se caracterizaram como promissores para a liberação controlada de fármacos. Outros trabalhos envolvendo a obtenção de agregados de sais de bile e quitosana também investigaram o potencial como novos nanomateriais de encapsulação de vetores adenovirais (Lameiro *et al.*, 2006a), proteína (Lameiro *et al.*, 2006b) e plasmídeos (Cadete *et al.*, 2012).

Entretanto, é importante destacar que a quitosana é insolúvel em água e em determinadas faixas de pH, o que pode limitar sua aplicação em alguns sistemas. Os grupos amino presentes em sua estrutura são bases fracas que se protonam em pH abaixo de 6,5, tornando-a solúvel. No entanto, acima desse valor de pH, a quitosana se torna insolúvel (An *et al.*, 2009; Shariatinia, 2018). Nesse contexto, a carboximetilquitosana, um derivado obtido pela modificação química da quitosana através da carboximetilação, surge como uma alternativa promissora, pois apresenta solubilidade em uma ampla faixa de pH, com boa atividade interfacial e capacidade de formar agregados em soluções concentradas (Al-Remawi *et al.*, 2017; An *et al.*, 2009), ampliando suas possibilidades de aplicação (Shariatinia, 2018).

A carboximetilquitosana (CMQ) é um derivado da quitosana obtido por meio da reação de carboximetilação, na qual grupos carboximetila são introduzidos na estrutura do biopolímero. Essa modificação atribui à CMQ solubilidade em uma ampla faixa de pH, com boa atividade interfacial e capacidade de formar agregados em soluções concentradas (Al-Remawi *et al.*, 2017; An *et al.*, 2009), ampliando suas possibilidades de aplicação (Shariatinia, 2018). A reação de carboximetilação pode ocorrer em diferentes sítios da cadeia polimérica, como nos grupos hidroxila C-6 ou no grupo amino (NH₂). A depender das condições reacionais, podem ser obtidos três tipos principais de derivados: O-carboximetilquitosana, N,O-carboximetilquitosana ou N,N-carboximetilquitosana (Ladeira *et al.*, 2021), conforme ilustrado na Figura 6. A melhora da solubilidade em meio aquoso está associada, principalmente, à formação de ligações de hidrogênio entre seus grupos funcionais e as moléculas de água, bem como à presença de grupos carboxilato (–COO⁻) distribuídos ao longo da cadeia polimérica.

Esses grupos conferem caráter aniônico ao polímero, favorecendo interações eletrostáticas e aumentando sua afinidade com o meio aquoso, o que resulta em maior solubilidade quando comparada à quitosana não modificada (Chen *et al.*, 2024).

Figura 6 – Produtos gerados pela carboximetilação da quitosana



Fonte: Autoria Própria

Dentre as principais vantagens associadas à obtenção da CMQ, destacam-se a maior capacidade de retenção de líquidos, solubilidade em água, flexibilidade da cadeia polimérica, além de manter características como biodegradabilidade, biocompatibilidade, atividade antitumoral, antioxidante e antibacteriana (Shariatinia, 2018). Devido a essas propriedades, esse biopolímero possui grande potencial de aplicação nas áreas cosmética (Seino *et al.*, 2021), biomédica (Yu *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2020; Wahid *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019) e alimentícia (Zimet *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2022), principalmente no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de medicamentos (Chen *et al.*, 2024).

No que se refere à atividade antibacteriana da CMQ, ela está relacionada a interação do polímero com as membranas bacterianas carregadas negativamente, causando desestabilização e morte celular. Além desse mecanismo de superfície, seus oligômeros podem penetrar na célula e inibir a síntese de RNA e proteínas ao interferirem na transcrição do DNA. É importante destacar que essa atividade antimicrobiana pode ser modulada por diferentes parâmetros, tais como o peso molecular, o grau de desacetilação, a quantidade de grupos amino livres, bem como o pH e a concentração da solução em que o polímero está disperso (Chen *et al.*, 2024; Shariatinia, 2018; Geng *et al.*, 2023).

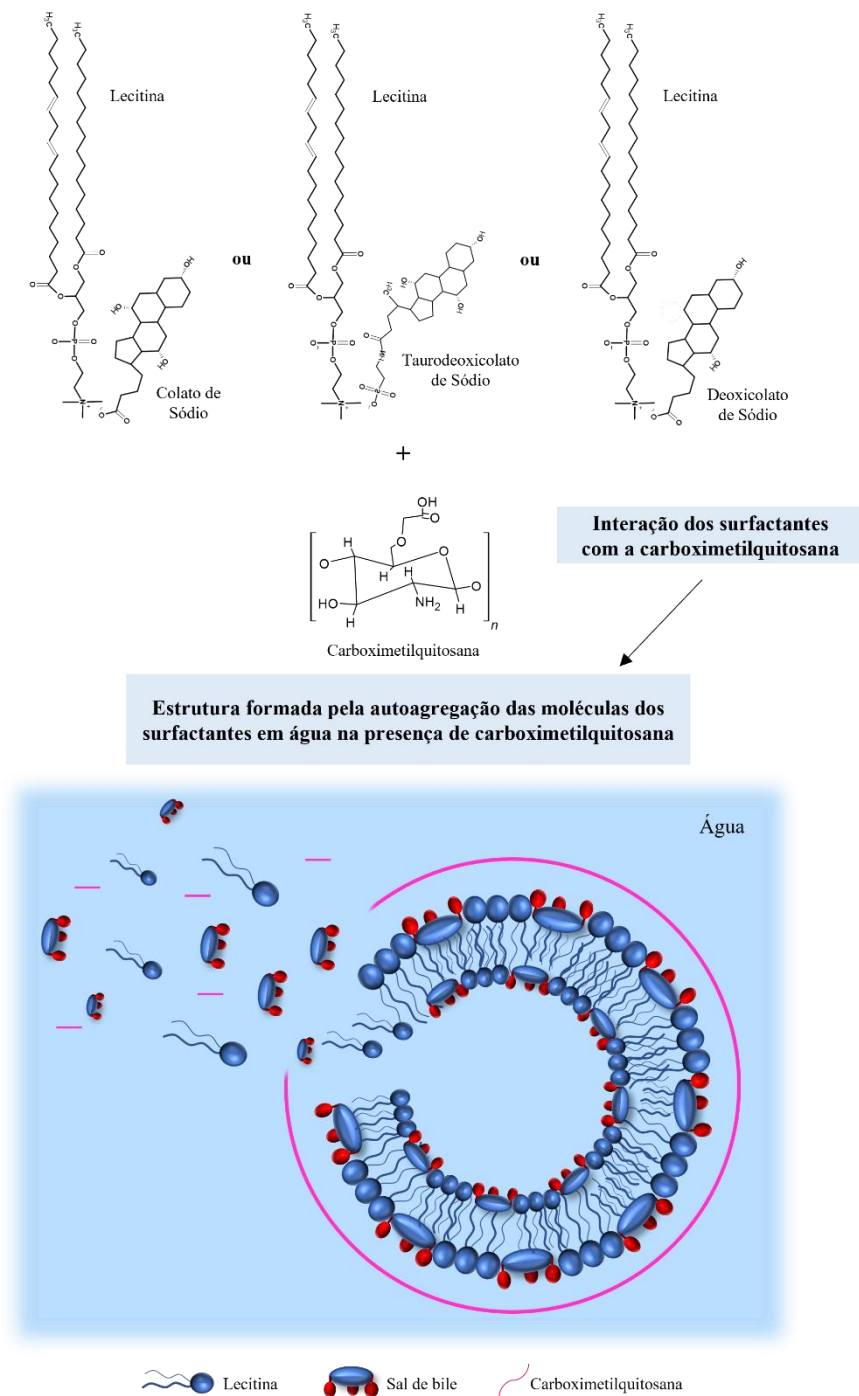
Estudos recentes demonstram a versatilidade da CMQ em diferentes aplicações. Chen *et al.* (2022) desenvolveram filmes compostos por CMQ, gelatina e óxido de zinco, destinados a aplicações em embalagens de alimentos. A análise da atividade antimicrobiana, conduzida pelo método de contagem em placas, revelou eficácia contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Além da eficácia antibacteriana, os filmes apresentaram boas propriedades mecânicas e funcionais, sendo considerados promissores para a conservação e proteção de alimentos. No campo biomédico, Wahid *et al.* (2018) desenvolveram hidrogéis supramoleculares baseados em CMQ, reticulados por íons de zinco (Zn^{2+}). A atividade antibacteriana dos materiais foi avaliada contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* por meio do método de difusão em ágar. Os resultados indicaram que os hidrogéis apresentaram atividade antimicrobiana dependente da concentração de íons Zn^{2+} . Essa atividade está associada tanto às interações eletrostáticas dos grupos funcionais do CMQ com a membrana bacteriana quanto ao efeito dos íons Zn^{2+} , que podem desestabilizar as estruturas celulares, gerar espécies reativas de oxigênio e interferir no metabolismo bacteriano. Os resultados obtidos indicam que esses hidrogéis representam uma abordagem promissora para aplicações biomédicas.

Outro exemplo relevante foi apresentado por Wang *et al.* (2019), que desenvolveram micelas poliméricas obtidas a partir da conjugação de CMQ com réina (R), um composto bioativo extraído das raízes e dos rizomas do ruibarbo. Esse sistema foi projetado como carreador para a administração oral de paclitaxel (PTX), um fármaco amplamente utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer, porém, limitado por sua baixa solubilidade em água e reduzida biodisponibilidade por via oral. As micelas formadas demonstraram elevada capacidade de atravessar a barreira epitelial intestinal, favorecendo a absorção do fármaco no trato gastrointestinal. Como resultado, observou-se um aumento significativo da biodisponibilidade oral do PTX, além de proporcionar elevada eficácia antitumoral em modelos animais, com baixa incidência de efeitos adversos. Dessa forma, os sistemas micelares desenvolvidos a partir de CMQ demonstram elevado potencial como plataformas para liberação de fármacos hidrofóbicos, representando uma estratégia promissora para superar limitações relacionadas à baixa solubilidade e à limitada absorção desses compostos.

Diante dessas propriedades, a utilização da CMQ no presente trabalho buscou aprimorar as características de estruturas supramoleculares formadas por sais de bile e lecitina. A incorporação deste polímero pode atribuir ao sistema não apenas propriedades antimicrobianas, mas também maior estabilidade estrutural, flexibilidade e responsividade ao pH, características desejáveis em sistemas de liberação controlada de fármacos. A CMQ pode ser ter a sua cadeia modulada pelo pH do corpo humano, melhorando a permeabilidade dos fármacos em regiões

de interesse (Wu; Zhu; Yuan, 2008; Shi *et al.*, 2023). Essas melhorias trazidas pelo polímero são relevantes, considerando que o material é destinado à área farmacêutica. Além disso, a CMQ irá contribuir para as propriedades mecânicas do material, resultando em estruturas mais viscoelásticas. As interações entre os surfactantes e o polímero serão do tipo eletrostática e por ligações de hidrogênio, a Figura 7 ilustra uma das estruturas que pode ser formada pelos compostos discutidos.

Figura 7 – Representação da possível estrutura formada pela autoagregação das moléculas de lecitina e sal de bile em água na presença de carboximetilquitosana



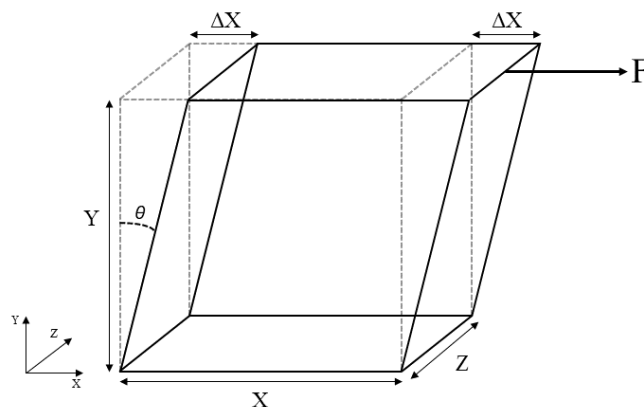
Fonte: Autorial Própria

1.2.5 Reologia

O termo “reologia” foi introduzido por Eugene C. Bingham no início da década de 1920, marcando o ponto de partida para a consolidação dessa área do conhecimento. Com a criação da Sociedade Americana de Reologia, a área firmou-se como um campo científico dedicado à compreensão dos fenômenos de escoamento e da deformação de materiais quando submetidos a diferentes tipos de perturbações mecânicas, tais como compressão, extensão e cisalhamento (Barnes; Hutton; Walters, 1993). Além disso, a resposta de um material a essas perturbações depende diretamente do seu estado físico (gasoso, líquido ou sólido) (Sabadini, 2024; Duan & Hou, 2023).

A caracterização reológica de um material pode ser obtida a partir da resposta do sistema à aplicação de uma tensão de cisalhamento. A tensão é definida como a força aplicada por unidade de área, sendo expressa em Pascal (Pa). Enquanto a deformação corresponde à mudança relativa na geometria do material em relação às suas dimensões originais, sendo uma grandeza adimensional. Quando uma tensão é aplicada a um corpo, ela pode atuar tanto de forma paralela, quanto perpendicular aos planos internos do material, originando tensões de cisalhamento e tensões normais, respectivamente. A Figura 8 ilustra a deformação resultante da aplicação de uma taxa de cisalhamento, evidenciando a alteração da área superficial do corpo. Essa mudança geométrica é caracterizada pela deformação (γ). A tensão de cisalhamento (τ) é dada por $\tau = F/xz$, enquanto a deformação é expressa por $\gamma = \Delta x/y$ (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Goodwin & Hughes, 2000; Sabadini, 2024).

Figura 8 – Amostra sujeita a uma tensão de cisalhamento com pequena deformação



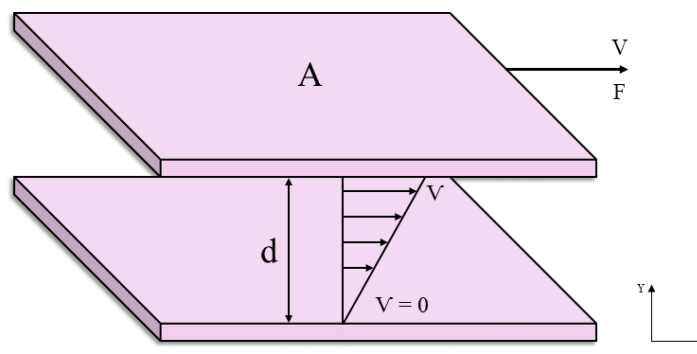
Fonte: Autorial Própria

A relação entre a tensão aplicada e a deformação resultante é uma propriedade intrínseca de cada material. Para sistemas que se comportam como sólidos ideais, essa relação é descrita

pela Lei de Hooke, representada por $\tau = G\gamma$, em que τ é a tensão de cisalhamento, γ é a deformação e G corresponde ao módulo de rigidez do material, refletindo seu comportamento elástico (Macosko, 1994; Palazzo, 2013).

Por outro lado, em um fluido puramente viscoso, a relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) obedece à Segunda Lei de Newton, dada por: $\tau = \dot{\gamma}\eta$, onde τ é a tensão aplicada, $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento e η é a viscosidade de cisalhamento (Luk; Kaler; Lee, 1997; Mouaz *et al.*, 2011). A Figura 9 apresenta o modelo de placas paralelas, utilizado para representar matematicamente essas relações em fluidos.

Figura 9 – Modelo de placas paralelas exemplificando uma perturbação mecânica produzida por uma determinada força de cisalhamento



Fonte: Autoria Própria

Nesse modelo, considera-se um sistema formado por duas placas paralelas de área A , separadas por uma distância d , com o líquido distribuído no espaço entre elas. Quando uma força F é aplicada à placa superior, ocorre o deslocamento dessa placa, gerando um campo de velocidades no fluido. A força por unidade de área necessária para provocar o movimento é dada por F/A e é proporcional ao gradiente de velocidade (ou taxa de cisalhamento), $\dot{\gamma}$ (Macosko, 1994). A constante de proporcionalidade η é denominada coeficiente de viscosidade, sendo a relação entre tensão e taxa de cisalhamento expressa por $\tau = \eta\dot{\gamma}$. No Sistema Internacional (SI), a taxa de cisalhamento é expressa em s^{-1} , enquanto a viscosidade apresenta unidade $Pa \cdot s$ (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Goodwin & Hughes, 2000).

A maioria dos sistemas reais apresentam ambas as propriedades elásticas e viscosas, sendo chamados de materiais viscoelásticos. Sistemas coloidais autoassociados, como micelas gigantes, redes supramoleculares ou soluções contendo polímeros de alta massa molar, geralmente apresentam pronunciada viscoelasticidade. A depender da natureza e organização dos agregados formados, diferentes modelos são empregados para descrever sua resposta mecânica (Macosko, 1994). Um dos modelos mais utilizados para esse tipo de sistema é o

Modelo de Maxwell, que descreve a viscoelasticidade por meio da associação de um elemento elástico (mola) e um elemento viscoso (amortecedor) em série (Francisco *et al.*, 2010).

Esse modelo permite correlacionar os parâmetros reológicos obtidos experimentalmente, como o módulo no platô (G_0) e o tempo de relaxação (τ_R), com os parâmetros estruturais do agregado. O comportamento viscoelástico é definido pelas equações:

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

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

onde G' corresponde ao módulo de armazenamento, responsável pela parcela de energia retida durante o ciclo de deformação, associada ao comportamento elástico do material, enquanto G'' representa o módulo de perda, relacionado à energia dissipada na forma de calor, característica da resposta viscosa. O G_0 e o τ_R podem ser deduzidos, respectivamente, dos valores dos módulos e da frequência do *crossover*, ω_C , no ponto de interseção $G'(\omega_C) = G''(\omega_C) = G_0/2$, e $\omega_C = 1/\tau_R$. O módulo G_0 está diretamente associado à densidade de entrelaçamentos das micelas gigantes a uma determinada temperatura (Macosko, 1994; Barnes; Hutton; Walters, 1993). Vale ressaltar que o modelo de Maxwell considera apenas um único tempo de relaxação τ_R , o que indica que o agregado apresenta uma microestrutura uniforme.

As variações nos parâmetros G e η são responsáveis por caracterizar as diferenças reológicas entre sistemas viscoelásticos. O modelo matemático mais preciso para descrever os comportamentos reológicos de fluidos viscoelásticos é o Modelo de Maxwell (equação 4), o qual considera que o fluido apresenta propriedades elásticas (fluido viscoelástico) (Cautela *et al.*, 2017; Palazzo, 2013; Luk; Kaler; Lee, 1997; Cates; Candau, 1990):

$$\frac{d\gamma}{dt} = \frac{1}{G} \frac{d\tau}{dt} + \frac{\tau}{\eta} \quad (\text{Equação 3})$$

A componente elástica do material sofre uma deformação imediata até um limite definido, enquanto a componente viscosa apresenta uma deformação dependente do tempo. Após a remoção da tensão aplicada, a fração viscosa não recupera sua configuração original, ao passo que a fração elástica retorna ao estado inicial, indicando que parte da energia fornecida

ao sistema é dissipada. Dessa forma, diferentes ensaios podem ser empregados para a caracterização dos sistemas e a determinação de seus parâmetros reológicos, como tempo de relaxação, módulo no platô, módulo elástico, módulo viscoso e frequência. Entre esses ensaios, os testes de fluência e oscilatórios são os mais adequados para sistemas que contêm micelas gigantes. Os parâmetros reológicos descritos nas Equações 1 e 2 são obtidos por meio de medições no modo oscilatório, enquanto as curvas de escoamento e a resistência à fluência são determinadas a partir de ensaios de fluência.

1.3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O desenvolvimento de sistemas coloidais auto-organizados baseados em componentes biocompatíveis e funcionalmente versáteis tem despertado crescente interesse científico e tecnológico, especialmente para aplicações farmacêuticas. Embora sistemas binários formados por lecitina e sais de bile em meio aquoso sejam amplamente estudados e reconhecidos pela capacidade de formar agregados supramoleculares complexos, ainda existem lacunas quanto à compreensão de como a incorporação de polímeros hidrofílicos pode modular suas propriedades estruturais, dinâmicas e reológicas.

Nesse contexto, a introdução da carboximetilquitosana surge como uma estratégia promissora, uma vez que esse biopolímero apresenta elevada solubilidade em ampla faixa de pH, biocompatibilidade, biodegradabilidade e potencial bioativo, características desejáveis para sistemas de liberação controlada de fármacos. Além disso, a literatura carece de estudos sistemáticos envolvendo sistemas ternários constituídos por lecitina, sais de bile e carboximetilquitosana, particularmente no que se refere à correlação entre estrutura supramolecular e comportamento viscoelástico. Assim, este estudo justifica-se pela necessidade de aprofundar o conhecimento fundamental sobre as interações intermoleculares e os mecanismos de auto-organização nesses sistemas, bem como por seu potencial de gerar materiais coloidais mais estáveis, responsivos e funcionalmente ajustáveis, ampliando suas perspectivas de aplicação na área farmacêutica e em outras áreas tecnológicas de interesse.

1.4 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência da carboximetilquitosana na formação, na estrutura e nas propriedades reológicas de sistemas auto-organizados compostos por lecitina e diferentes sais de bile (taurodeoxicolato de sódio, colato de sódio e deoxicolato de sódio) em meio aquoso.

1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter sistemas coloidais auto-organizados formados por lecitina, sais de bile e carboximetilquitosana, avaliando o efeito de diferentes proporções sal de bile/lecitina 1:1 e 1:2;
- Avaliar como diferentes concentrações de carboximetilquitosana (0,5, 1 e 2 % (m/m)) afetam as propriedades estruturais, estabilidade coloidal e viscoelasticidade dos sistemas de sal de bile/lecitina, por meio de técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS), análise de potencial zeta e reologia;
- Obter os parâmetros reológicos como viscosidade aparente em baixo cisalhamento, módulo de perda (G'') e módulo elástico (G');
- Correlacionar os parâmetros reológicos com as características estruturais dos sistemas, visando compreender como a presença do polímero impacta a dinâmica, a estabilidade e a organização dos agregados supramoleculares;
- Analisar comparativamente a influência dos diferentes sais biliares (NaC, NaDC e NaTDC) sobre a formação e o comportamento dos sistemas na presença do polímero.

CAPÍTULO 2 – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA CARBOXIMETILQUITOSANA

Metodologia de obtenção e técnicas de caracterização físico-química

Esse trabalho realizou três procedimentos distintos de síntese da carboximetilquitosana com a finalidade de comparar e verificar qual dos métodos de modificação da quitosana resultou em um produto mais adequado para ser adicionado aos sistemas coloidais. Para fins de organização e clareza ao longo do texto, as amostras obtidas foram nomeadas como “CMQ-M1”, “CMQ-M2”, “CMQ-M3”, correspondendo, respectivamente, às metodologias I, II e III adotadas.

2.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1.1 Materiais

Para o preparo das amostras de carboximetilquitosana, foram utilizados os seguintes reagentes: quitosana de média massa molecular ($6,7 \times 10^5$ g.mol⁻¹) [CAS No. 9012-76-4; lote: STBH9838], 2-propanol (60,10 g.mol⁻¹) [CAS No. 67-63-0; lote: SHBR6536] e ácido monocloroacético (94,50 g.mol⁻¹) [CAS No. 79-11-8; lote: MKCT5571], todos adquiridos da Sigma-Aldrich®; álcool etílico 99,5% (46,07 g.mol⁻¹) [CAS No. 64-17-5; lote: 135158], fornecido pela Dinâmica®; ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹ (36,46 g.mol⁻¹) [CAS No. 7647-01-0; lote: 2404152579], adquirido da Êxodo Científica; e hidróxido de sódio (40,00 g.mol⁻¹) [CAS No. 1310-73-2; lote: 41610], fornecido pela Fmaia®. Para realizar a determinação da concentração de NaCl pelo Método de Mohr, utilizou-se o nitrato de prata (169, 17 g.mol⁻¹) adquirido da Synth®.

2.1.2 Preparo das amostras

2.1.2.1 Metodologia I

A primeira metodologia escolhida para a síntese de CMQ foi baseada pela descrita no trabalho de Chen e Park (2003). Inicialmente, 10 g de quitosana foram dispersos em um frasco contendo 13,5 g de hidróxido de sódio, 20 mL de água destilada e 80 mL de isopropanol, com o objetivo de promover a alcalinização e o intumescimento do polímero. Essa mistura foi mantida sob aquecimento a 50 °C em banho ultratermostático por 1 hora. Posteriormente, preparou-se uma solução contendo 15 g de ácido monocloroacético dissolvidos em 20 mL de isopropanol, a qual foi adicionada lentamente à mistura anterior, sob agitação constante, no intervalo de 30 minutos (adição gota a gota). Após a adição completa, a reação foi conduzida por mais 4 horas a 50 °C.

A reação foi interrompida pela adição de 200 mL de álcool etílico a 70% (preparada com 140 mL de etanol e 60 mL de água destilada). O produto foi então filtrado e lavado com etanol a fim de remover sais residuais e promover a desidratação, e deixado para secar em temperatura ambiente. Por fim, a CMQ obtida foi suspensa em 100 mL de álcool etílico a 80% contendo 10 mL de ácido clorídrico, sob agitação magnética, por 30 minutos. O material sólido foi novamente filtrado, lavado com etanol para neutralização e, por fim, seco a vácuo.

2.1.2.2 Metodologia II

A segunda metodologia foi baseada na síntese descrita por Aiping, Jianhing e Wenhui (2006). Primeiramente, 2 g de quitosana foram imersos em 25 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio (preparada com 19,13 g de NaOH dissolvidos em 19,13 mL de água destilada), por 24 horas. Posteriormente, a quitosana alcalinizada foi triturada e transferida para um frasco. Em seguida, preparou-se uma solução contendo 5 g de ácido monocloroacético dissolvidos em 25 mL de isopropanol, a qual foi adicionada lentamente (gota a gota) sobre a quitosana, durante 20 minutos. A reação foi realizada por 7 h em temperatura ambiente. No final da reação, a mistura foi submetida a filtração para separação do solvente. O resíduo sólido foi então solubilizado em 100 mL de água destilada, seguido da adição de solução de ácido clorídrico (HCl 1 M) até o ajuste do pH para 7, visando promover a neutralização. Na sequência, adicionou-se 150 mL de etanol anidro à solução, promovendo a precipitação do produto. O sólido precipitado foi separado por filtração, lavado com etanol anidro para remoção de impurezas e, por fim, seco a vácuo em temperatura ambiente.

2.1.2.3 Metodologia III

A terceira metodologia utilizada para a obtenção da CMQ foi baseada no procedimento descrito por Shi *et al.* (2023). Inicialmente, preparou-se uma solução contendo 3,48 g de NaOH dissolvidos em 12 mL de água destilada. A essa solução foram adicionados 6 g de quitosana e 48 mL de isopropanol, mantendo-se a mistura sob agitação magnética, em temperatura ambiente, durante 1 hora. Posteriormente, preparou-se uma solução contendo 3,48 g de ácido monocloroacético dissolvidos em 12 mL de isopropanol. Esta solução foi adicionada lentamente, gota a gota, à mistura alcalina previamente preparada. A reação foi conduzida em temperatura ambiente, com tempo de duração de 24 horas. Após esse período, adicionaram-se 50 mL de etanol a 80% (v/v) para interromper a reação. O sólido obtido foi lavado com etanol a 80% (v/v), até que o filtrado apresentasse pH 7. Por fim, o produto foi seco em estufa a 60 °C.

2.1.3 Caracterização das amostras

2.1.3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização das amostras de CMQ por espectroscopia no infravermelho foi realizada em um espectrômetro FTIR, modelo Tensor II (Bruker). As análises foram conduzidas utilizando o método de pastilhas de brometo de potássio (KBr), na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução espectral de 2 cm^{-1} e totalizando 64 varreduras por espectro.

2.1.3.2 Difração de Raios-X (DRX)

Os espectros de difração de raios-X das amostras foram obtidos por meio de um difratômetro modelo MiniFlex-XRD (Rigaku), utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), com tensão de 40 kV e corrente de 30 mA. As análises foram realizadas na faixa de 2θ de $2,0^\circ$ a $70,0^\circ$, com velocidade de varredura de $10,0^\circ$ por minuto. Para avaliar a cristalinidade da quitosana e das CMQ's, o índice de cristalinidade (IC (%)) foi calculado. O método de deconvolução de difração de raios X foi selecionado por apresentar valores mais precisos do índice de cristalinidade, sendo realizada por meio do software Origin Pro 2018, considerando a função gaussiana como a forma dos picos resolvidos. O índice de cristalinidade das amostras estudadas foi calculado pela seguinte equação:

$$\text{IC (\%)} = 100 \times \text{Ac} / \text{At} \text{ (Equação 4)}$$

onde Ac representa a área do domínio cristalino e At a área do domínio total, respectivamente (Rotaru *et al.*, 2018; Bindu e Thomas, 2014; Sindhu *et al.*, 2010). Além disso, os difratogramas obtidos foram analisados utilizando o software X'Pert HighScore Plus®. A identificação das fases cristalinas foi realizada por meio da comparação dos picos experimentais com os padrões cristalográficos disponíveis no banco de dados do Crystallography Open Database (COD), utilizando a função *Search & Match*.

2.1.3.3 Determinação da Massa Molar Viscosimétrica

A determinação da massa molar média viscosimétrica (M_v) da Carboximetilquitosana foi realizada pelo método da viscosimetria capilar, conforme princípios estabelecidos para caracterização de polissacarídeos hidrossolúveis (Martin, 1993; Tager, 1978; Tanganini, 2020). Utilizou-se um viscosímetro do tipo Ostwald (diâmetro de 0,75 mm) imerso em banho termostático mantido a $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$.

As soluções de CMQ foram preparadas utilizando água destilada como solvente, variando-se as concentrações em 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 g/L. O tempo de escoamento do

solvente puro (t_0) e das soluções poliméricas (t) foi cronometrado em triplicata para cada concentração, garantindo a reprodutibilidade dos dados.

A partir dos tempos médios de escoamento, foram calculadas a viscosidade relativa ($\eta_{rel} = t/t_0$), a viscosidade específica ($\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1$) e a viscosidade reduzida ($\eta_{red} = \eta_{sp}/C$). A viscosidade intrínseca $[\eta]$ foi determinada pela extrapolação gráfica da curva de viscosidade reduzida em função da concentração, utilizando a equação de Huggins (η_{sp}/C) e de Kraemer ($\ln \eta_{red}/C$) (Martin, 1993; Tager, 1978; Tanganini, 2020).

A massa molar viscosimétrica média (M_v) foi então calculada empregando-se a equação de Mark-Houwink-Sakurada (Martin, 1993; Tager, 1978; Tanganini, 2020):

$$[\eta] = K \times M_v^a \text{ (Equação 5)}$$

Onde K e a são constantes empíricas relacionadas ao sistema polímero-solvente sob temperatura específica (Martin, 1993; Tager, 1978; Tanganini, 2020).

2.1.3.4 Determinação do Grau de Substituição (DS)

O Grau de Substituição (DS) da Carboximetilquitosana foi determinado por meio de uma Titulação Potenciométrica. O DS dos grupos carboximetila introduzidos (-COOH) e o conteúdo de grupos amina (-NH₂) livres da CMQ foram determinados por titulação potenciométrica (Shi *et al.*, 2023).

Preparo da Amostra e Titulação: Amostras de CMQ ($m = 0,05$ g) foram dissolvidas em um volume (50 mL) de solução padronizada de HCl (0,1 M) para garantir a protonação completa de todos os grupos amina (-NH) e carboxila (-COOH) presentes. A solução resultante foi titulada em triplicata com solução padronizada de NaOH (0,25 M) sob agitação constante, monitorando-se o pH em função do volume de titulante adicionado. A curva de titulação resultante, pH vs. Volume de NaOH, apresentou três pontos de inflexão (V_1 , V_2 e V_3) que correspondem à neutralização sequencial das espécies ácido-base (Zheng *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2023).

1. **V₁**: Ponto de equivalência correspondente à neutralização do HCl em excesso;
2. **V₂**: Ponto de equivalência correspondente à neutralização dos grupos carboxílicos (-COOH) livres;
3. **V₃**: Ponto de equivalência correspondente à neutralização dos grupos amônio (-NH₃⁺).

Cálculo do DS: O número de mols de grupos carboxila (n_{-COOH}) e amina (n_{-NH_2}) foi calculado a partir da diferença dos volumes de NaOH consumidos e da concentração do titulante (C_{NaOH}) (Shi *et al.*, 2023).

$$n\text{-COOH} = C_{\text{NaOH}} \times (V_2 - V_1) \text{ (Equação 6)}$$

$$n\text{-NH}_3^+ = C_{\text{NaOH}} \times (V_3 - V_2) \text{ (Equação 7)}$$

O Grau de Substituição de Carboximetila (DS-COOH) foi obtido pela normalização do número de mols de grupos -COOH pelo número de mols de unidades de glucosamina (n_{CS}), calculados com base na massa da amostra e na massa molar da unidade de glucosamina (161 g/mol) (Shi *et al.*, 2023):

$$\text{DS-COOH} = \frac{n\text{-COOH}}{n_{\text{CS}}} \text{ (Equação 8)}$$

2.1.3.5 Determinação da Concentração de NaCl – Método de Mohr

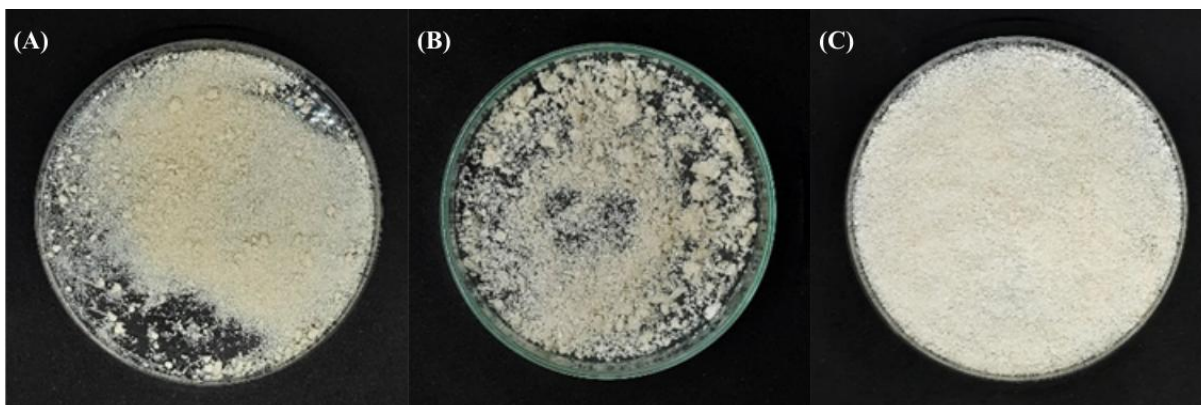
O método de Mohr foi utilizado para determinar a concentração de Cloreto de sódio (NaCl) presente na amostra de CMQ. Esse método é um método argentimétrico, o qual utiliza cromato de potássio (K_2CrO_4) como indicador e solução padrão de nitrato de prata (AgNO_3) como titulante. Para a realização do experimento, foi preparada uma solução de CMQ com concentração de 5 g/L (0,5% m/v). As titulações foram realizadas utilizando-se uma solução de AgNO_3 0,1 mol/L e uma solução indicadora de K_2CrO_4 a 5%. O ponto final da titulação foi identificado pela formação de um precipitado vermelho-acastanhado de cromato de prata (Ag_2CrO_4) (Wijaya *et al.*, 2024; Baccan *et al.*, 2001; Skoog *et al.*, 2007).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Aspectos Visuais e Rendimento das Sínteses

A Figura 10 apresenta as amostras de CMQ obtidas a partir das três metodologias propostas. Em termos de características visuais, observa-se que, a embora a coloração das amostras não apresente diferenças expressivas, são perceptíveis variações na textura e aparência do pó. Essas variações podem estar associadas às condições reacionais adotadas em cada metodologia, tais como tempo de reação, proporção de reagentes e eficiência na etapa de lavagem, que impactam diretamente na remoção de subprodutos e na pureza do material.

Figura 10 – Aspecto macroscópico das carboximetilquitosanas obtidas neste estudo. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3



Fonte: Arquivo Pessoal

Com o intuito de avaliar a eficiência dos procedimentos escolhidos, foi realizado o cálculo do rendimento de cada metodologia. Esse parâmetro é fundamental, uma vez que permite quantificar a proporção de material obtido em relação à quantidade inicial. O rendimento de cada síntese foi calculado conforme a Equação 9, considerando a relação entre a massa seca do polímero modificado e a massa inicial total dos componentes utilizados (Chen e Park, 2003):

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{Massa da CMQ (g)}}{\text{Massa inicial (g)}} \right) \times 100 \text{ (Equação 9)}$$

O rendimento foi calculado considerando apenas os reagentes que participaram diretamente da reação química que levou a formação do produto, e não os solventes, agentes de lavagem ou agentes de precipitação (como água, isopropanol, etanol e HCl usados na neutralização e purificação). Por esse motivo, foi considerada apenas as massas da quitosana, do hidróxido de sódio e do ácido monocloroacético como sendo massa inicial. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Rendimento de cada metodologia reproduzida

Amostra	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Rendimento (%)
CMQ-M1	38,50	20,31	52,75
CMQ-M2	26,13	2,24	8,57
CMQ-M3	12,96	5,29	40,82

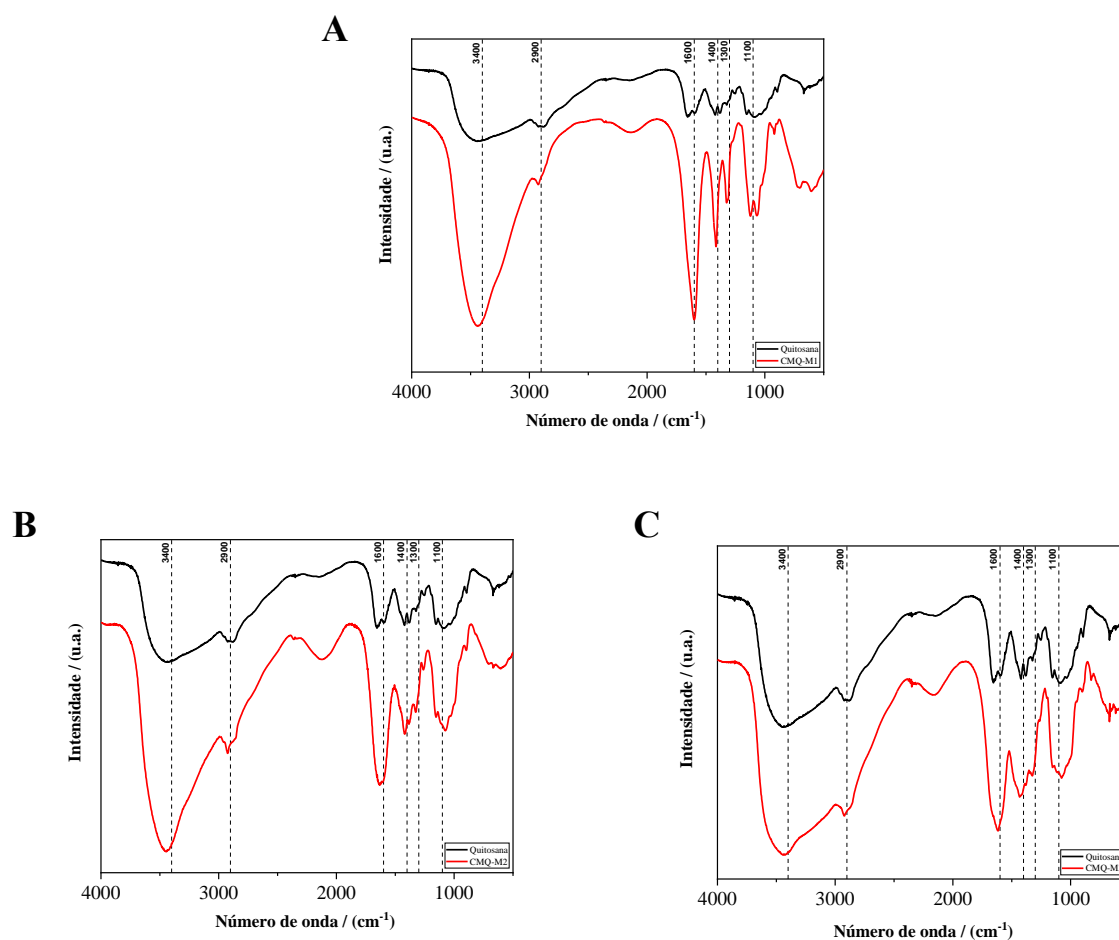
A metodologia I (CMQ-M1) apresentou o maior rendimento (52,75%), indicando condições reacionais mais favoráveis à formação do derivado carboximetilado. Esse valor pode estar associado tanto a uma maior eficiência na reação de carboximetilação, quanto à possível permanência de espécies inorgânicas residuais no material final, decorrentes do uso de

hidróxido de sódio e da neutralização ácida. A metodologia III (CMQ-M3) resultou em um rendimento intermediário (40,82%), sugerindo que, embora eficaz, pode envolver perdas associadas às etapas de purificação ou menor eficiência reacional. Por outro lado, a metodologia II (CMQ-M2) apresentou o menor rendimento (8,57%), o que pode estar relacionado a limitações na conversão da quitosana ou a perdas durante o processo de síntese e isolamento do produto. Esses resultados poderão ser mais bem interpretados e correlacionados a partir da análise dos dados obtidos nas técnicas de caracterização.

2.2.2 Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 11 apresenta os espectros de infravermelho obtidos para as amostras de CMQ comparados com a quitosana.

Figura 11 – Espectros de infravermelho (IR) das CMQs sintetizadas. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3



Os espectros de FTIR mostram uma banda larga na região de 3400 cm^{-1} , atribuída às vibrações de estiramento dos grupos hidroxila (O–H) e amino (N–H), com leve deslocamento

em relação à quitosana. Na região de aproximadamente 2900 cm^{-1} , observa-se, em todos os espectros, a banda característica das vibrações de estiramento dos grupos $-\text{CH}$ e $-\text{CH}_2$, presente tanto na quitosana, quanto nas CMQ's (Wang *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023; Chen e Park, 2003; Mohamed & El-Ghany, 2024; An *et al.*, 2009). A presença dessas duas bandas indica que a estrutura básica do polímero foi preservada nas três metodologias.

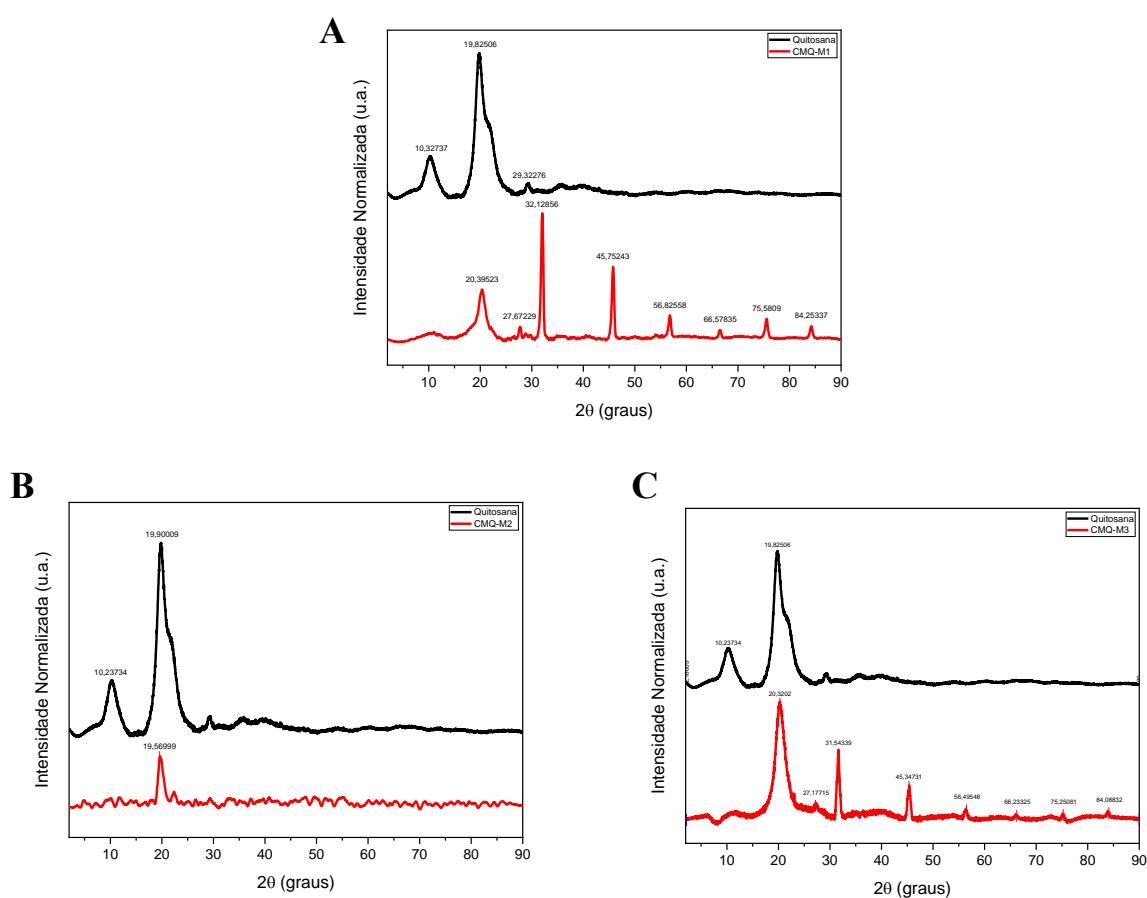
O principal indicativo da carboximetilação aparece na banda próxima de 1600 cm^{-1} , correspondente a deformação axial assimétrica do grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$), acompanhada da banda em torno de 1400 cm^{-1} , relacionada à deformação axial simétrica desse mesmo grupo funcional. A presença dessas duas bandas nos três espectros confirma que o ácido monocloroacético foi incorporado às amostras modificadas (Shi *et al.*, 2023; Mohamed & El-Ghany, 2024).

A banda na região de 1300 cm^{-1} , associada às vibrações de estiramento da ligação C–N (amida), é mais evidente na CMQ-M1, enquanto permanece menos pronunciada nas amostras CMQ-M2 e CMQ-M3. Isso indica que, para a CMQ-M1, a reação provavelmente ocorreu no grupo amida, enquanto que, nas demais metodologias, a modificação provavelmente ocorreu nos grupos hidroxila (Shi *et al.*, 2023). As regiões de 1000 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} , atribuídas às vibrações de C–O e C–O–C, aparecem nas três amostras, confirmando as alterações estruturais decorrentes da carboximetilação (Wang *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023; Chen e Park, 2003; Mohamed & El-Ghany, 2024; Hassani; Hosseinpour; Bidgoli, 2024; An *et al.*, 2009; Ibrahim; Reda; Klingner, 2020). A comparação entre os espectros das três amostras evidencia que todas as metodologias de síntese promoveram a inserção dos grupos carboximetila, comprovada pela presença das bandas características do grupo carboxilato nas regiões de estiramento assimétrico e simétrico.

2.2.3 Análise por Difração de Raios-X (DRX)

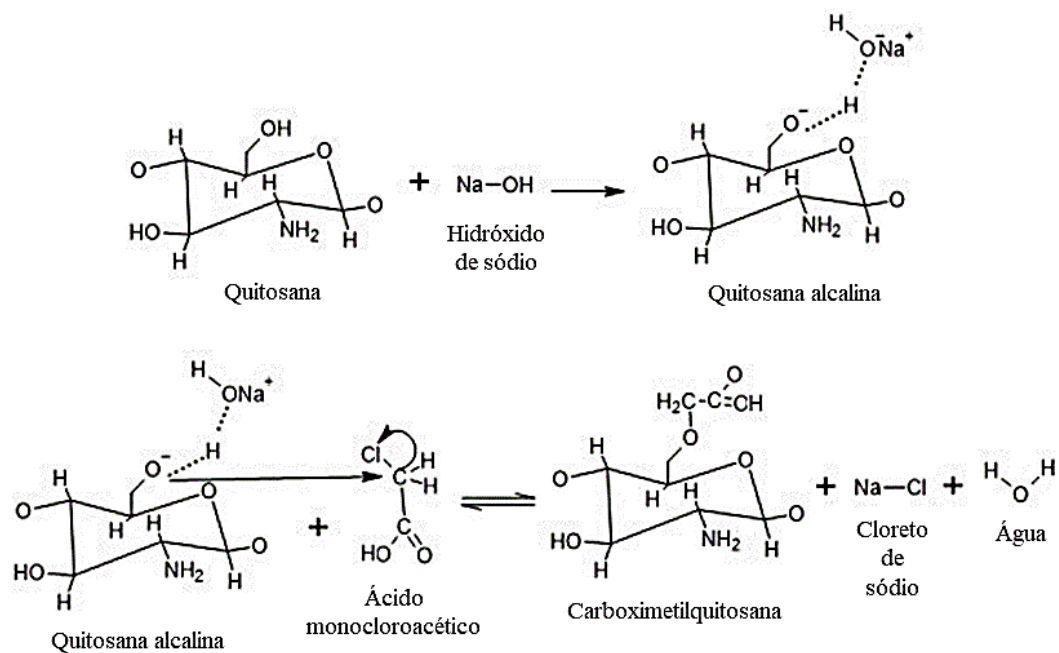
A Figura 12 apresenta a análise de DRX das amostras de CMQ e da quitosana.

Figura 12 – Difratoograma de raios-X das CMQs sintetizadas. (A) CMQ-M1, (B) CMQ-M2 e (C) CMQ-M3



Observa-se que a quitosana exibe picos característicos em torno de $10,3^\circ$ e $19,8^\circ$ (2θ), que são atribuídos às regiões de ordem semicristalina e relacionados à organização das cadeias poliméricas. Esse comportamento está de acordo com o descrito na literatura, que aponta para a presença de zonas cristalinas intercaladas com regiões amorfas na estrutura da quitosana (Kusuma; Al-as'bani; Darmokoesoemo, 2015). Nas amostras CMQ-M1 e CMQ-M3, foram identificados picos de difração nas posições 20° , 27° , 32° , 45° , 56° , 66° , 75° e 84° (2θ). A partir da análise pelo software X'Pert HighScore Plus® e pelo banco de dados COD, verificou-se que os picos em aproximadamente 27° - 84° correspondem ao NaCl formado durante a reação de carboximetilação, Figura 13. Esse resultado era esperado, pois essas amostras de carboximetilquitosana não passaram pela etapa de purificação, o que explica a presença desses picos no difratograma.

Figura 13 – Esquema da reação de carboximetilação da quitosana, envolvendo a formação da quitosana alcalina e sua reação com ácido monocloroacético para obtenção da carboximetilquitosana



Fonte: Autoria Própria

O pico próximo a 20° permanece presente nas três CMQs, sendo típico da quitosana, entretanto, observa-se sua redução de intensidade, indicando diminuição da cristalinidade. Essa tendência é reforçada pelos valores de índice de cristalinidade (IC): 56,03% (quitosana), 55,60% (CMQ-M1), 12,64% (CMQ-M2) e 42,88% (CMQ-M3). Além disso, o desaparecimento do pico em $10,3^\circ$ evidencia que a modificação química alterou de forma significativa a organização estrutural inicial do polímero. Essas mudanças são coerentes com o mecanismo de carboximetilação, que envolve a substituição de grupos OH e/ou NH_2 por grupos carboximetila. Esses substituintes, mais volumosos, aumentam o efeito estérico e dificultam o empacotamento das cadeias. Quando presentes na forma de carboxilato de sódio, também introduzem repulsão eletrostática, reforçando a desordem estrutural e favorecendo a formação de uma matriz mais amorfa. Resultados similares foram relatados por Mondal e Ahmed (2020) e Abreu e Campana-Filho (2009).

De maneira geral, os difratogramas confirmam que a carboximetilação modificou a organização estrutural da quitosana, reduzindo sua cristalinidade. Cada metodologia adotada resultou em diferentes perfis cristalográficos, o que está relacionado às condições específicas de cada metodologia, como tempo de reação, proporção dos reagentes e ambiente reacional, que influenciam diretamente o grau de substituição e a extensão da modificação nas cadeias poliméricas.

Os resultados demonstraram que todas as metodologias introduziram os grupos carboximetila na estrutura da quitosana. Essa modificação foi confirmada pelas análises de FTIR, que evidenciaram as bandas atribuídas aos grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$) e às alterações nas ligações C–N e C–O, e pelas análises de DRX, que mostraram mudanças na cristalinidade do polímero. Entre as amostras sintetizadas, a CMQ-M1 apresentou o desempenho mais favorável, reunindo maior rendimento (52,75%), bandas mais intensas associadas aos grupos carboximetila no FTIR e maior cristalinidade no DRX (55,60%). Dessa forma, a amostra CMQ-M1 foi escolhida para ser utilizada nos sistemas coloidais desse trabalho. A partir dessa escolha, foram determinados a massa molar viscosimétrica e o grau de substituição específicos da CMQ-M1, além da concentração de NaCl presente na amostra, de modo a caracterizar completamente o polímero empregado nos sistemas coloidais.

2.2.4 Determinação da Massa Molar Viscosimétrica da CMQ-M1

A viscosidade relativa (η_{rel}) foi calculada a partir da razão entre o tempo de escoamento da solução e o tempo do solvente, seguido do cálculo da viscosidade reduzida (η_{red}) e da viscosidade específica (η_{sp}). Em seguida, ajustou-se o comportamento de η_{red} e η_{sp} em função da concentração, extrapolando-se ambas para concentração zero, conforme os modelos de Huggins e Kraemer para estimar a viscosidade intrínseca $[\eta]$. A Tabela 3 apresenta os tempos de escoamento obtidos experimentalmente para o solvente e para as diferentes concentrações de CMQ, além das viscosidades calculadas.

Tabela 3 – Tempos de escoamento e cálculo das viscosidades para soluções de CMQ em água

Concentração (g/L)	t ₁ (s)	t ₂ (s)	t ₃ (s)	t _{médio} (s)	η_{rel}	η_{sp}	η_{red} (L/g)
0,0 (Água)	124,9	121,33	122,26	122,83	-	-	-
0,1	131,77	127,58	127,79	129,05	1,051	0,051	0,51
0,2	144,97	152,47	143,95	147,13	1,198	0,198	0,99
0,3	156,09	154,28	156,55	155,64	1,267	0,267	0,89
0,4	162,33	162,03	162,22	162,19	1,32	0,32	0,8
0,5	175,36	175,28	178,43	176,36	1,436	0,436	0,872

O ajuste linear das equações de Huggins e Kraemer resultou em valores coerentes entre si, indicando boa linearidade do regime diluído. A viscosidade intrínseca foi determinada pela

média das extrapolações, resultando em $[\eta]$ igual a 6,503 dL/g (ou 650,3 mL/g). Aplicando a equação de Mark-Houwink-Sakurada com as constantes para carboximetilquitosana em meio aquoso, $K = 0,0000792$ dL/g e $a = 1,00$ (Ge e Luo, 2005), tem-se a massa molar viscosimétrica média (M_v), sendo, aproximadamente, $8,21 \times 10^6$ g/mol ou 8210 kDa. Este resultado indica que o processo de síntese da CMQ resultou em um peso molecular alto (Ardean *et al.*, 2021).

2.2.5 Grau de Substituição (DS) da CMQ-M1

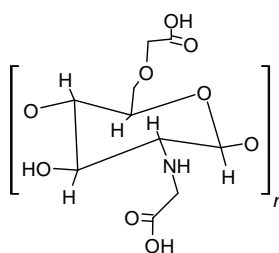
A determinação do grau de substituição (DS) da CMQ-M1 foi realizada por titulação potenciométrica, identificando-se os três pontos característicos do processo: (i) neutralização do HCl livre (V_1), (ii) desprotonação dos grupos $-\text{COOH}$ (V_2) e (iii) desprotonação dos grupos $-\text{NH}_3^+$ (V_3). A partir dos volumes diferenciais $\Delta V_{-\text{COOH}} = (V_2 - V_1)$ e $\Delta V_{-\text{NH}_2} = (V_3 - V_2)$, foram calculados os graus de substituição nos grupos hidroxila ($\text{DS}_{-\text{OH}}$), amina (DS_{-NH_2}) e o DS_{total} ($\text{DS}_{-\text{COOH}}$), obtidos em triplicata. Os resultados das Titulações 1, 2 e 3 e o valor médio do DS são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de ΔV e Grau de Substituição (DS) da CMQ-M1 pela Titulação Potenciométrica

Amostra	$\Delta V_{-\text{COOH}}$ ($V_2 - V_1$) (mL)	$\Delta V_{-\text{NH}_2}$ ($V_3 - V_2$) (mL)	$\text{DS}_{-\text{COOH}}$	DS_{-NH_2}	$\text{DS}_{-\text{OH}}$
Titulação 1	0,51	0,68	0,52	0,31	0,21
Titulação 2	0,61	0,69	0,65	0,27	0,38
Titulação 3	0,62	0,68	0,66	0,27	0,39
Média	0,58	0,68	0,61	0,28	0,33

A análise desses resultados revela que a amostra CMQ-M1 sofreu carboximetilação tanto em grupos hidroxila (33%) quanto em grupos amino (28%). Assim, provavelmente, a estrutura de CMQ formada é a N,O-carboximetilquitosana, Figura 14 (Abreu e Campana-Filho, 2009).

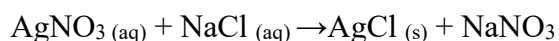
Figura 14 – Estrutura molecular da N,O-carboximetilquitosana



Fonte: Autoria Própria

2.2.6 Determinação da Concentração de NaCl – Método de Mohr

A solução de AgNO₃ foi previamente padronizada utilizando-se solução padrão de NaCl 0,1 mol/L, conforme o método de Mohr. A titulação baseia-se na reação de precipitação entre os íons prata e cloreto, conforme a reação:



Nesse método, o ponto final da titulação não coincide exatamente com o ponto de equivalência, uma vez que é necessária a adição em excesso de íons prata para promover a formação do precipitado de cromato de prata (Ag₂CrO₄), responsável pela visualização do término da titulação. Assim, foi realizada uma titulação em branco, na qual se titulou uma solução contendo todos os reagentes, exceto o analito, com o objetivo de corrigir o erro associado à detecção do ponto final. O volume de AgNO₃ obtido na prova em branco foi subtraído do volume total consumido nas titulações. Após essa correção, a concentração real da solução de AgNO₃ foi determinada como sendo 0,1042 mol/L.

A concentração de NaCl na amostra de CMQ foi determinada a partir da titulação de uma alíquota de 25,00 mL de uma solução preparada com 0,5 g de CMQ dissolvidos em 100 mL de água destilada. As titulações foram realizadas em triplicata, obtendo-se um volume médio corrigido de 4,27 mL de AgNO₃. Com base nos cálculos estequiométricos, a massa total de NaCl presente na solução de CMQ foi de 0,104 g, o que corresponde a um total de 20,8% (m/m) de NaCl. Dessa forma, a pureza da CMQ sintetizada foi de 79,2% (m/m). Considerando as concentrações de CMQ usadas nos sistemas com sal de bile e lecitina (0,5%, 1% e 2%, m/m), as quantidades de NaCl adicionadas foram aproximadamente 17,8, 35,6 e 71,2 mM, respectivamente. Esses valores são bem inferiores aos necessários para causar mudanças relevantes na automontagem de sistemas de sal de bile e lecitina, que geralmente exigem mais de 200–300 mM de NaCl. Assim, o NaCl residual da CMQ provavelmente não interfere nos resultados (Cheng *et al.*, 2014; Poša, 2023).

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA CARBOXIMETILQUITOSANA EM SISTEMAS COLOIDAIS COM LECITINA E SAIS DE BILE

Estudos reológicos, de estabilidade coloidal e estruturação supramolecular

3.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os sistemas de sal de bile e lecitina na presença da carboximetilquitosana foram submetidos a ensaios de reologia nos modos oscilatório e rotacional, bem como a análises de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial zeta, com o intuito de investigar os efeitos causados pelo polímero sobre a viscoelasticidade dos sistemas, estruturação e estabilidade das micelas formadas.

3.1.1 Materiais

Para o preparo dos sistemas coloidais foram utilizados lecitina de soja tipo II-S (19% de base colina) [CAS-No: 8002-43-5] adquirida pela Sigma-Aldrich[®], taurodeoxicolato de sódio (521,70 g.mol⁻¹) [CAS-No: 1180-95-6; Lote 3878873], deoxicolato de sódio (414,55 g.mol⁻¹) [CAS-No: 302-95-4; Lote VM1022604 219], colato de sódio (430,55 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-Aldrich[®]). A carboximetilquitosana utilizada foi a sintetizada utilizando a metodologia descrita por Chen e Park (2003) (CMQ-M1).

3.1.2 Preparo das amostras

As amostras foram preparadas utilizando 0,1 mol.L⁻¹ de lecitina, sal de bile (0,05 ou 0,1 mol.L⁻¹) e de carboximetilquitosana (0,5%, 1% ou 2% m/m). As soluções estoque de lecitina e dos sais biliares (NaC, NaDC e NaTDC) foram inicialmente preparadas em metanol. Em seguida, essas soluções foram misturadas nas proporções desejadas e mantidas sob agitação magnética a 100 rpm por 1 hora. Após esse período, os sistemas sal de bile/lecitina foram colocados em estufa a 35 °C até a completa evaporação do metanol.

Paralelamente, 10 mL de água deionizada foram utilizados para entumescer a carboximetilquitosana nas concentrações previamente determinadas, sendo a mistura deixada em repouso por 24 horas. Posteriormente, essa solução polimérica foi adicionada aos sistemas contendo sal de bile e lecitina, sendo novamente submetida à agitação por 24 horas, com o objetivo de assegurar a completa homogeneização e a dissolução dos componentes. Ao todo, foram produzidos 24 sistemas coloidais. As proporções de cada componente utilizadas em cada sistema encontram-se descritas na Tabela 5.

Tabela 5 – Proporções de sal de bile, lecitina e polímero que foram utilizados na formação dos agregados

Lecitina (mol.L ⁻¹)	Sal de bile (mol.L ⁻¹) (NaTDC, NaDC ou NaC)	CMQ (mol.L ⁻¹)
0,1	0,05	-
0,1	0,05	0,5%
0,1	0,05	1%
0,1	0,05	2%
0,1	0,1	-
0,1	0,1	0,5%
0,1	0,1	1%
0,1	0,1	2%

3.1.3 Caracterização dos Sistemas Autoagregados

3.1.3.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta

A distribuição de tamanho das partículas dispersas foi determinada por meio da técnica de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), enquanto a estabilidade coloidal dos sistemas foi avaliada por medições de potencial zeta. Ambas as análises foram realizadas no Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR), mediante aprovação prévia de proposta submetida ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM - grant 88887.940654/2024-00). Os experimentos foram conduzidos utilizando o equipamento Zetasizer (Malvern®), com o auxílio do software Zetasizer v. 8.02 (Malvern®) para aquisição e processamento dos dados. Para as medidas de DLS, as amostras foram acondicionadas em cubetas de quartzo (modelo ZEN2112), enquanto as análises de potencial zeta foram realizadas em uma célula capilar (modelo DTS1060). Todas as análises foram conduzidas em triplicata, a uma temperatura controlada de 25 °C.

3.1.3.2 Reologia

Para a execução dos experimentos, utilizou-se o equipamento Haake RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific), acoplado a dois sistemas de geometria: Z20 Din Ti, empregado para as amostras de menor viscosidade, e placa-placa (rotor PP35 Ti e base P61 com 60 mm de diâmetro), utilizado para os sistemas de maior viscosidade. O espaçamento entre as geometrias (gap) foi mantido constante em 1,00 mm ao longo de todas as medições. Os ensaios oscilatórios foram conduzidos dentro da região linear de viscoelasticidade, previamente determinada por meio de varreduras dinâmicas de deformação. As análises foram realizadas sob temperaturas controladas de 25,00 °C, com a regulação térmica fornecida por um banho termostático externo

(Haake F6/8 - Thermo Fisher Scientific Inc.) com precisão de 0,01 °C. As amostras foram analisada em três diferentes intervalos: 7 dias após o preparo, 21 dias após o preparo e 35 dias após o preparo.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

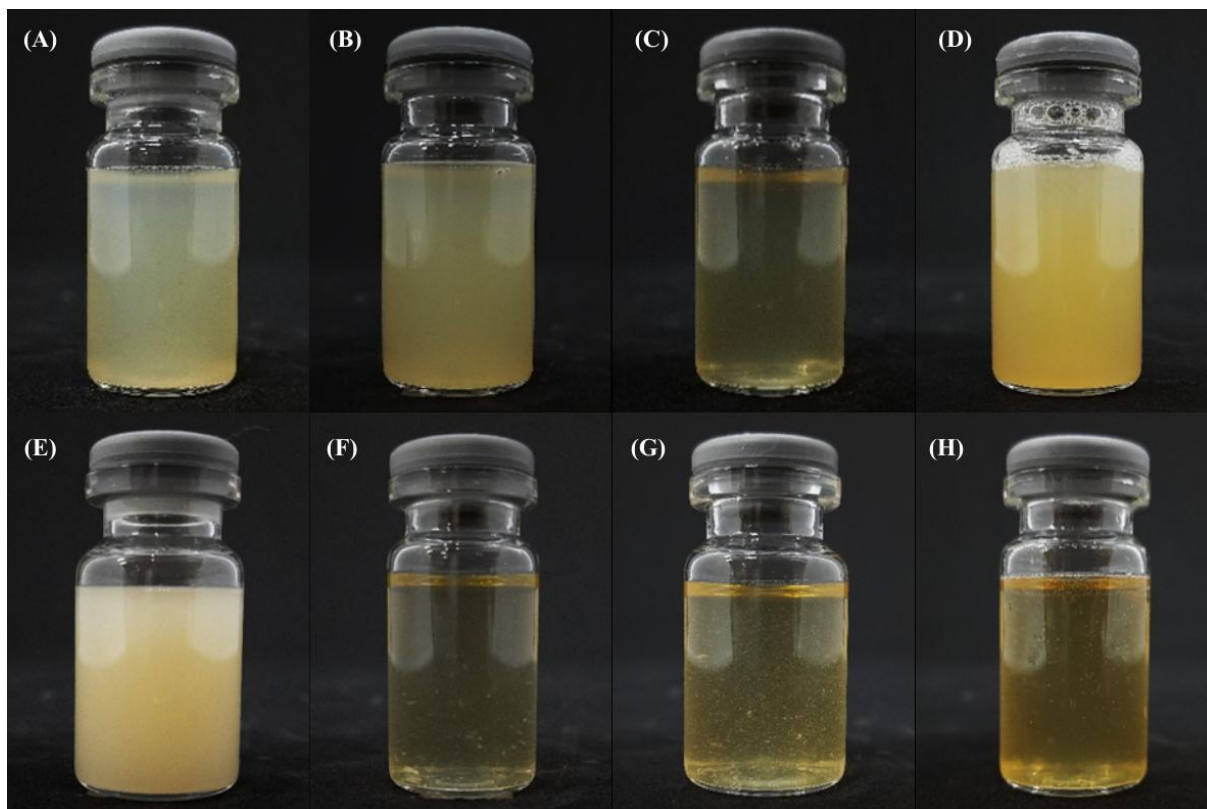
3.2.1 *Sistemas com Colato de Sódio (NaC)*

Nesta seção, são apresentados e discutidos os resultados obtidos para os sistemas coloidais contendo colato de sódio em associação com a lecitina, na ausência e na presença de CMQ. O estudo foi conduzido considerando dois tipos de concentrações entre NaC e lecitina: 1:2 NaC/Lecitina e 1:1 NaC/Lecitina. Essa abordagem permitiu avaliar como a variação da razão entre os componentes anfífilicos influencia o comportamento estrutural e dinâmico dos sistemas, bem como os efeitos induzidos pela adição do polímero.

3.2.1.1 *Aspectos Visuais*

A Figura 15 apresentam os aspectos visuais dos sistemas preparados nas proporções 1:2 NaC/Lecitina e 1:1 NaC/Lecitina, na ausência e na presença de diferentes concentrações de CMQ. As imagens permitem uma avaliação preliminar das mudanças macroscópicas decorrentes tanto da variação na razão NaC/Lecitina quanto da incorporação do polímero, oferecendo indícios iniciais sobre possíveis alterações estruturais nos sistemas.

Figura 15 – Sistemas formados por NaC/Lecitina. (A) 1:2 NaC/Lecitina; (B) 1:2 NaC/Lecitina – 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaC/Lecitina; (F) 1:1 NaC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaC/Lecitina – 2% CMQ



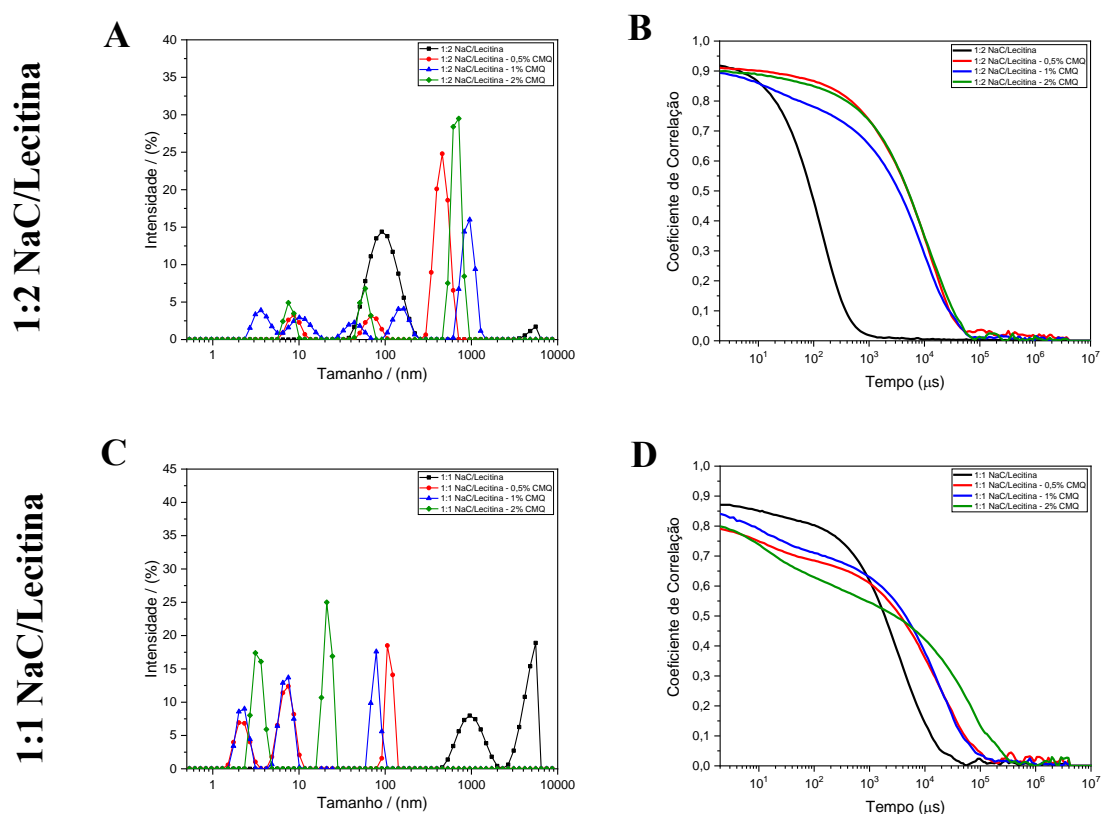
Fonte: Arquivo Pessoal

Para os sistemas de proporção 1:2 NaC/Lecitina, observa-se que o sistema sem CMQ apresenta aparência opaca e turva. Com a adição de 0,5% de CMQ, nota-se que o sistema permanece turvo, de forma semelhante à amostra sem a adição do polímero. A adição de CMQ 1% produz um sistema mais translúcido, sugerindo alteração no arranjo das estruturas coloidais. Na concentração de 2% de CMQ, o sistema apresenta aspecto heterogêneo, mais opaco e de coloração amarelada. No caso dos sistemas preparados na razão 1:1 NaC/Lecitina, a amostra sem CMQ apresenta aspecto opaco, esbranquiçado e turvo. Com a adição de 0,5% e 1% de CMQ, nota-se uma alteração na aparência, tornando-se mais translúcido, com leve presença de partículas em suspensão, indicando uma possível reorganização das estruturas coloidais. Na concentração mais elevada, de 2% de CMQ, o sistema adquire coloração mais intensa, mantendo-se translúcido, embora com bastante partículas. A variação da coloração observada entre os sistemas preparados nas razões 1:2 e 1:1 NaC/Lecitina evidencia que a proporção entre os componentes anfílicos desempenha papel determinante na forma como o polímero interage e reorganiza as estruturas coloidais, o que será mais bem discutido nas análises complementares de DLS, potencial zeta e reologia.

3.2.1.2 Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas

A análise de Espalhamento de Luz Dinâmico apresentada na Figura 16 evidencia diferenças marcantes na distribuição de tamanho dos agregados formados nos sistemas 1:2 e 1:1 NaC/Lecitina, na ausência e na presença de CMQ.

Figura 16 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaC e lecitina



No sistema 1:2 NaC/Lecitina, a amostra controle (sem adição de CMQ) apresentou agregados predominantemente menores comparada aos sistemas com adição de polímero. A incorporação da CMQ promoveu um aumento do tamanho das partículas, esse efeito é evidenciado tanto pelo deslocamento das populações para faixas de tamanho maiores, quanto pelo alongamento das curvas de autocorrelação, indicando a formação de agregados maiores e mais lentamente difundidos. Em especial, na concentração de 1% de CMQ, observa-se a coexistência de diferentes populações, sugerindo um processo de reorganização estrutural induzido pelo polímero (Bayati *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2013; Sabadini, 2024).

Uma possível explicação para o efeito observado é que a CMQ interage com os agregados formados por 1:2 NaC/Lecitina por meio de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio. Essas interações permitem que o polímero atue como uma “ponte” entre as micelas,

ocasionando na junção de agregados próximos. Ou seja, possivelmente as micelas menores se uniram, formando estruturas maiores, o que explica o aumento do tamanho das partículas observado nas distribuições de tamanho. Além disso, a presença do polímero também pode ter reduzido a mobilidade desses agregados em solução, fazendo com que eles se difundissem mais lentamente, o que explicaria o alongamento das curvas de autocorrelação. Dessa forma, a adição do polímero favorece a formação de agregados maiores e estruturalmente mais organizados no sistema 1:2 NaC/Lecitina.

No sistema 1:1 NaC/Lecitina, a presença de CMQ resultou em um comportamento oposto. O sistema controle apresentou agregados de maior tamanho, enquanto a adição do polímero, mesmo em baixas concentrações, promoveu uma redistribuição para populações menores, acompanhada por curvas de autocorrelação com decaimento mais rápido e múltiplos regimes, característicos de sistemas polidispersos (Hassan; Rana; Verma, 2015). No sistema 1:1 NaC/Lecitina, a quantidade de NaC é maior, o que aumenta o número de cargas negativas disponíveis no meio. No sistema sem polímero, essas condições favorecem o crescimento dos agregados, resultando em partículas maiores. Quando a CMQ é adicionada, ela passa a interagir com o NaC e com a lecitina. Essas interações fazem com que o polímero se adsorva na superfície dos agregados, dificultando a aproximação e a união entre micelas. Como consequência, o crescimento dos agregados é limitado e estruturas grandes tendem a se reorganizar em partículas menores.

De forma geral, esses resultados demonstram que, enquanto no sistema 1:2 a CMQ favoreceu o aumento do tamanho dos agregados, no sistema 1:1 o polímero atuou na redução do tamanho dos agregados. Esse comportamento contrastante evidencia que a proporção entre sal de bile e lecitina modula as interações entre os agregados e a CMQ, resultando em mecanismos distintos de reorganização coloidal em função da composição do sistema.

3.2.1.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaC/Lecitina

As amostras de NaC/Lecitina tiveram seus potenciais elétricos medidos e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%)

CMQ (%)	Potencial zeta (mV)	
	1:2	1:1
0	- 0,4	- 17,3
0,5	- 3,7	- 23,6

1	- 26,2	- 22,7
2	- 24,0	- 26,3

A análise de potencial zeta revela que a adição de CMQ promoveu um aumento em módulo da carga superficial negativa em todos os sistemas NaC/Lecitina, independentemente da proporção utilizada, indicando maior repulsão eletrostática entre os agregados e, conseqüentemente, maior estabilidade coloidal (Kato; Nakamura; Shimizu, 2022). Os sistemas controle, especialmente na proporção 1:2 NaC/Lecitina, apresentaram valores de potencial zeta próximos à neutralidade ou de baixa magnitude, indicando baixa estabilidade, uma vez que valores de potencial zeta com módulo inferior a 5 mV indicam uma tendência à instabilidade e agregação (Selvamani, 2019). Com a incorporação de CMQ, observa-se um aumento do módulo do potencial zeta, refletindo a introdução de grupos aniônicos provenientes do polímero.

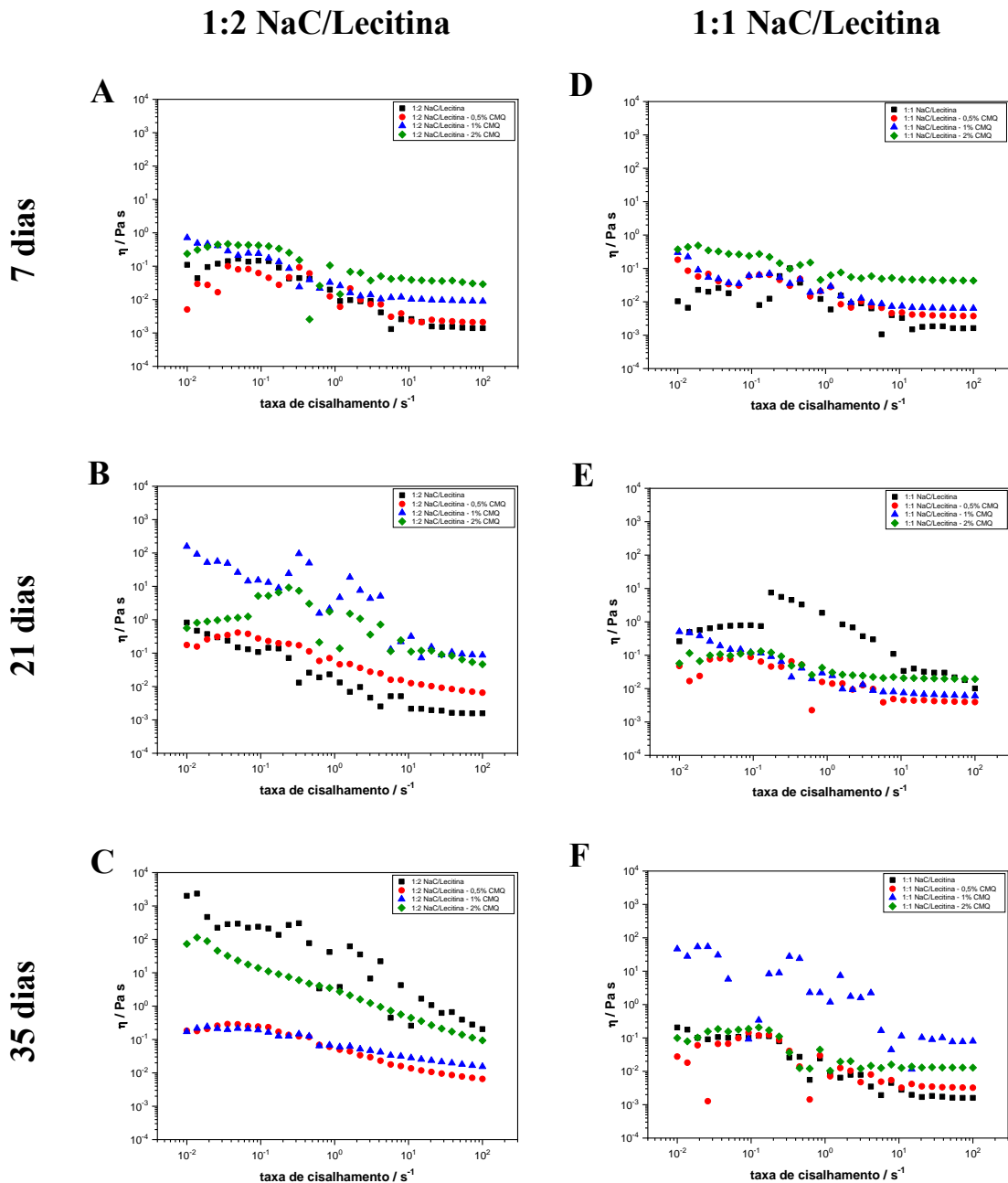
A hipótese que pode explicar os resultados apresentados pelos sistemas 1:2 NaC/Lecitina é que, como o potencial zeta da amostra controle é próximo a zero, a repulsão eletrostática é insuficiente para manter os agregados separados, ou seja, há o domínio das interações atrativas. Como a lecitina, sendo um fosfolípido zwitteriônico, possui um grupamento colina com carga positiva (Agrawal *et al.*, 2021), a parte aniônica da CMQ (Chen *et al.*, 2024) interage com essas cargas positivas superficiais. Dessa forma, a CMQ fica na interface dos agregados, o que explica o aumento do tamanho das partículas. O aumento do potencial zeta (de -0,4 para -26,2 mV) prova que a CMQ conferiu uma densidade de carga negativa à superfície, resultando em um sistema coloidal estável por repulsão eletrostática (Bhattacharjee *et al.*, 2010; Disalvo; Frias, 2021; De Gennes, 1990).

Na proporção 1:1, o sistema controle possui uma carga negativa de -17,3 mV e agregados maiores. A adição de CMQ pode estar competindo por espaço na interface e um excesso de carga negativa. Em vez de se ligar e aumentar o tamanho, a CMQ pode estar "rompendo" as grandes estruturas micelares em unidades menores e mais protegidas. De modo geral, esses resultados indicam que a CMQ atua como agente estabilizante nos sistemas coloidais, independentemente da proporção NaC/Lecitina, promovendo a modulação das interações eletrostáticas na interface dos agregados.

3.2.1.4 Análise reológica dos autoagregados de NaC/Lecitina

A Figura 17, mostra os resultados obtidos para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaC/Lecitina e 1:1 NaC/Lecitina.

Figura 17 – Curva de fluxo dos sistemas compostos por NaC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias



Os resultados indicam que as amostras avaliadas se comportam como fluidos não-Newtonianos, apresentando o fenômeno de *shear thinning* (comportamento pseudoplástico). Tal comportamento está associado ao alinhamento dos agregados na direção do fluxo, promovendo maior organização interna sob tensão aplicada (Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000; Sabadini, 2024). Além disso, foram identificadas regiões características de *shear*

thickening (comportamento dilatante), nas quais a viscosidade aparente aumenta com o incremento da taxa de cisalhamento. Esse comportamento foi mais evidente nas Figuras 14B e 14F, e pode estar associado à formação temporária de estruturas mais densas, decorrentes da aproximação entre partículas e agregados, ou ao aprisionamento de porções da fase líquida entre essas estruturas. Essa variação da viscosidade em função do cisalhamento é frequentemente atribuída à formação de estruturas birrefringentes induzidas pelo cisalhamento, conhecidas como *shear-induced structures* (SIS) ou *shear bands*, que refletem a reorganização interna dos sistemas sob esforço mecânico (Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000).

O platô Newtoniano, geralmente observado em sistemas micelares e fundamental para a compreensão da viscosidade em regime de baixa taxa de cisalhamento, não foi claramente identificado em algumas curvas. Por esse motivo, todas as análises deste trabalho foram baseadas nos valores de viscosidade aparente (η) obtidos a uma taxa de cisalhamento de $0,01 \text{ s}^{-1}$. Esse parâmetro está associado ao tamanho das estruturas autoagregadas e à densidade de entrelaçamentos, sendo, portanto, uma medida direta do grau de estruturação do sistema (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Cates; Candau, 1990; Macosko, 1994). A Tabela 7 exhibe os resultados obtidos para os sistemas NaC/Lecitina.

Tabela 7 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a $0,01 \text{ s}^{-1}$ para os sistemas NaC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento

CMQ (%)	η (Pa.s) após:					
	7 dias		21 dias		35 dias	
	1:2	1:1	1:2	1:1	1:2	1:1
0	0,110	0,010	0,827	0,261	2009	0,107
0,5	0,005	0,182	0,175	0,048	0,183	0,028
1	0,713	0,299	157,7	0,508	0,172	46,45
2	0,236	0,372	0,564	0,057	72,93	0,100

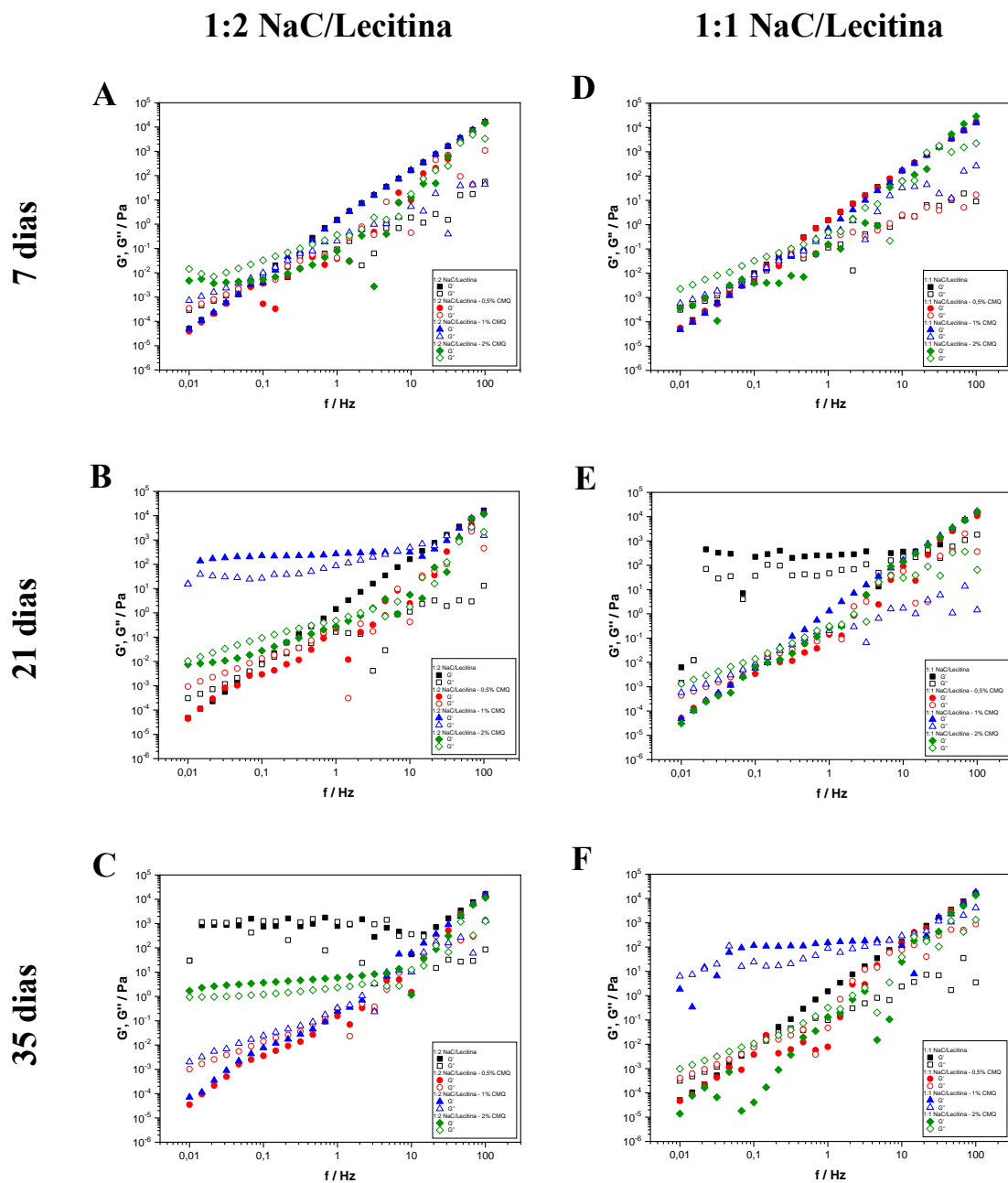
A comparação entre os sistemas 1:2 e 1:1 NaC/Lecitina evidencia que a proporção de sal de bile influencia diretamente a forma como a CMQ modula a organização estrutural e, conseqüentemente, o comportamento reológico. No sistema 1:2, o efeito da CMQ depende da concentração: enquanto 1% e 2% promoveram aumento inicial da viscosidade, a adição de 0,5% resultou em sua redução, indicando desestruturação dos agregados. Com o tempo, observa-se uma tendência à reestruturação, em que o sistema controle apresentou maior viscosidade

aparente, sugerindo a formação de agregados mais alongados e entrelaçados (Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020).

Em contraste, no sistema 1:1, todas as concentrações de CMQ aumentaram a viscosidade após 7 dias de armazenamento, indicando interação inicial mais efetiva do polímero com as estruturas coloidais. Com o tempo, o sistema controle e a amostra com 0,5% de CMQ apresentaram redução da viscosidade, enquanto aquelas com 1% e 2% exibiram aumento, sugerindo reorganização estrutural e o desenvolvimento de uma rede mais consistente (Cates & Candau, 1990; Barnes; Hutton; Walters, 1993). Sistemas com menor concentração de NaC (50 mM) apresentam maior viscosidade aparente porque favorecem a formação de agregados mais longos e entrelaçados, enquanto concentrações mais altas (100 mM) promovem maior blindagem eletrostática, reduzindo o grau de entrelaçamento e, conseqüentemente, a viscosidade. Esse comportamento também é evidenciado nas soluções estoque de NaC, nas quais a amostra a 50 mM apresentou maior viscosidade aparente em comparação à solução a 100 mM (Figura 1A – Apêndice A).

Esses resultados demonstram que a interação entre NaC e CMQ é dependente da proporção entre os componentes, bem como do tempo, refletindo uma dinâmica estrutural sensível à composição do sistema. A Figura 18 mostra os resultados do ensaio dinâmico oscilatório para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaC/Lecitina e 1:1 NaC/Lecitina.

Figura 18 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias



Após 7 dias de armazenamento, tanto os sistemas 1:2, quanto os 1:1 NaC/Lecitina apresentaram G'' (módulos de perda) $>$ G' (módulo de armazenamento) em praticamente toda a faixa de frequência, comportamento típico de sistemas viscosos, nas quais as interações entre os agregados são fracas. Esse comportamento também foi evidenciado nas soluções estoque de NaC nas concentrações de 50 mM e 100 mM (Figura 2A – Apêndice A). Após 21 dias, os sistemas 1:2 NaC/Lecitina – 1% CMQ e 1:1 NaC/Lecitina (controle) evoluíram para um regime mais estruturado, com aproximação entre G' e G'' . Esse comportamento é característico da formação de micelas gigantes, nas quais ocorre crescimento anisotrópico das micelas e aumento do tempo de relaxação do sistema, resultando em um comportamento viscoelástico mais

pronunciado, ainda dependente da frequência (Cautela *et al.*, 2017; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000).

Após 35 dias de armazenamento, ambas as amostras retornaram ao comportamento observado inicialmente. Ou seja, exibem redução da viscoelasticidade, com retorno ao regime $G'' > G'$, sugerindo desestruturação da rede micelar ao longo do tempo, possivelmente devido a rearranjos internos ou instabilidade das interações intermoleculares. Nesse mesmo período, os sistemas 1:2 NaC/Lecitina controle e com 1% e 2% de CMQ, assim como os sistemas 1:1 NaC/Lecitina controle e com 1% de CMQ, exibiram $G' > G''$ em uma ampla faixa de frequência, indicando a formação de redes mais rígidas do tipo gel fraco, associadas à presença de micelas gigantes ou à formação de estruturas lamelares (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000).

Os sistemas coloidais formados por NaC e lecitina apresentaram comportamento dependente da proporção entre os componentes anfífilos, da concentração de CMQ e do tempo de armazenamento. A interação da CMQ com os sistemas 1:1 NaC/Lecitina, promoveu aumento da estabilidade coloidal e redução do tamanho dos agregados. O polímero pode se intercalar na interface micelar, forçando as micelas gigantes e longas a se fragmentarem em unidades menores e mais estáveis, o que explica a redução do tamanho no DLS. Provavelmente, a CMQ impede o crescimento desordenado das micelas gigantes através da fragmentação eletrostática, o que resulta em um sistema mais homogêneo e com viscoelasticidade preservada por mais tempo, especialmente na concentração de 1%.

Nos sistemas 1:2 NaC/Lecitina, a CMQ favoreceu o crescimento micelar, com aumento do tamanho dos agregados e formação de múltiplas populações. Do ponto de vista reológico, os sistemas apresentaram inicialmente comportamento viscoso ($G'' > G'$), evoluindo, em condições específicas de composição e tempo, para géis fracos. Neste sistema, há maior concentração de lecitina, que possui o grupamento colina (carga positiva) (Agrawal *et al.*, 2021). O controle é instável (potencial zeta próximo de zero), sugerindo que o NaC (aniônico) não é suficiente para mascarar todas as cargas positivas da lecitina ou conferir repulsão (Kong *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016). Assim, a CMQ pode ter sido fortemente atraída pelas cargas de colina expostas. Ao se adsorver na superfície, a CMQ reduziu a repulsão e permitiu que pequenos agregados se unissem ou que as micelas crescessem para acomodar o polímero, explicando o aumento no tamanho das partículas observado no DLS. A desestruturação em 0,5% pode ter ocorrido porque essa quantidade é insuficiente para recobrir todos os agregados, gerando um desequilíbrio de carga que rompeu as estruturas existentes sem formar uma nova rede estável.

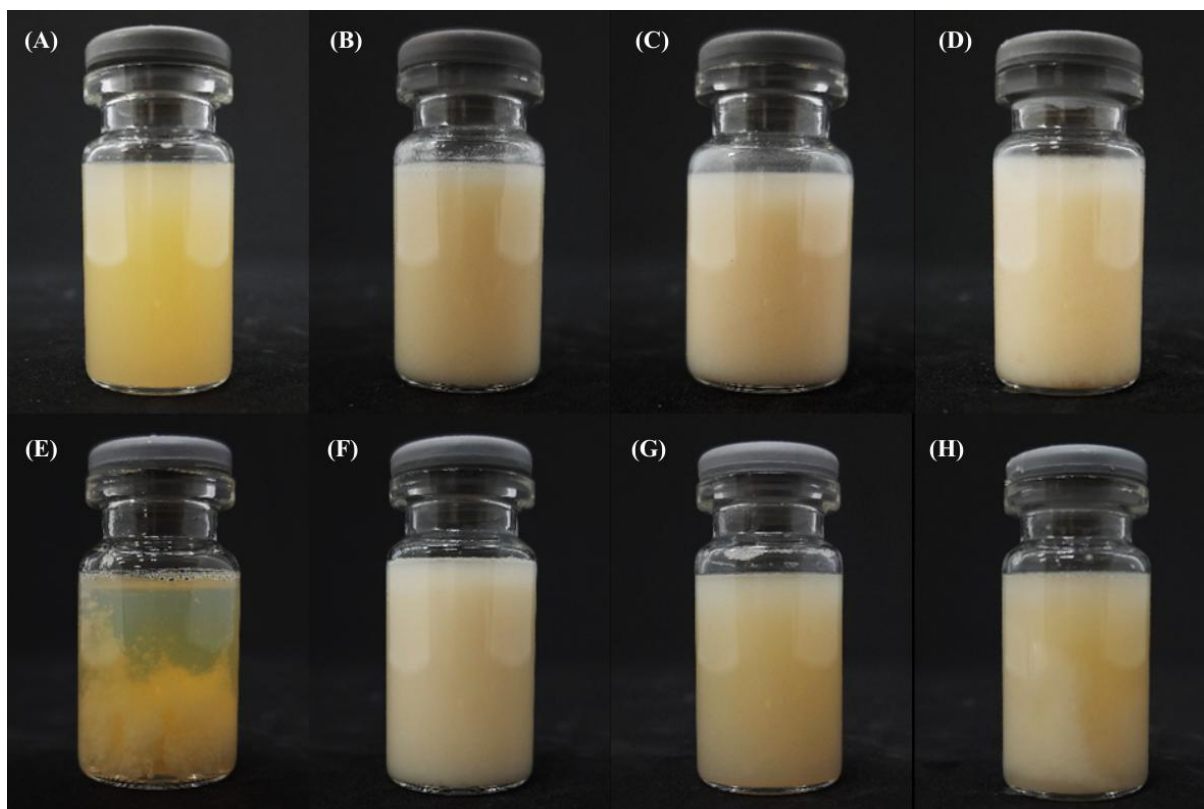
3.2.2 Sistemas com Deoxicolato de Sódio (NaDC)

Nesta seção, são apresentados e discutidos os resultados obtidos para os sistemas coloidais contendo deoxicolato de sódio em associação com a lecitina, na ausência e na presença de CMQ. O estudo foi conduzido considerando dois tipos de concentrações entre NaDC e lecitina: 1:2 NaDC/Lecitina e 1:1 NaDC/Lecitina. Essa abordagem permitiu avaliar como a variação da razão entre os componentes anfílicos influencia o comportamento estrutural e dinâmico dos sistemas, bem como os efeitos induzidos pela adição do polímero.

3.2.2.1 Aspectos Visuais

A Figura 19 apresenta os aspectos visuais dos sistemas preparados nas proporções 1:2 NaDC/Lecitina e 1:1 NaDC/Lecitina, na ausência e na presença de diferentes concentrações de CMQ. A imagem permite uma avaliação preliminar das mudanças macroscópicas decorrentes tanto da variação na razão NaDC/Lecitina quanto da incorporação do polímero, oferecendo indícios iniciais sobre possíveis alterações estruturais nos sistemas.

Figura 19 – Sistemas formados por NaDC/Lecitina. (A) 1:2 NaDC/Lecitina; (B) 1:2 NaDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaDC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaDC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaDC/Lecitina; (F) 1:1 NaDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaDC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaDC/Lecitina – 2% CMQ



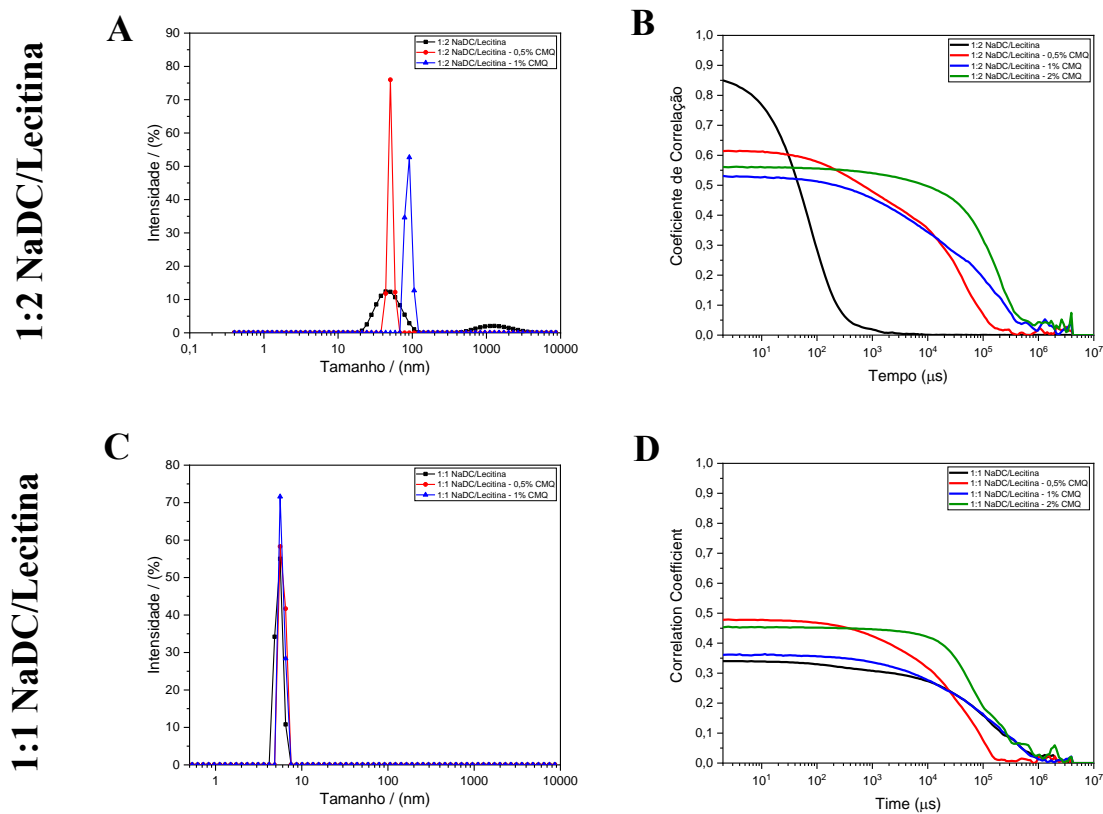
Fonte: Arquivo Pessoal

Nos sistemas 1:2 NaDC/Lecitina não foram observadas mudanças perceptíveis associadas ao aumento da concentração do polímero. O sistema controle apresenta aspecto opaco e amarelado. Com a adição de 0,5%, 1% e 2% de CMQ, a opacidade é mantida, mas a coloração tende ao bege, resultando em uma aparência mais homogênea. Essa uniformidade indica que a interação entre a CMQ e os componentes do sistema não resultou em grandes alterações em relação ao comportamento observado no sistema controle. Para os sistemas 1:1 NaDC/Lecitina, a avaliação visual revela diferenças marcantes. Na ausência de CMQ, observa-se separação de fases e precipitados, indicando baixa estabilidade. Com a adição de 0,5%, 1% e 2% de CMQ, os sistemas passam a exibir dispersões opacas, uniformes e mais homogêneas, apontando para um efeito estabilizante do polímero. De maneira geral, a presença de CMQ favorece a formação de dispersões mais estáveis em comparação ao sistema controle. Esses aspectos visuais reforçam a existência de interação entre o polímero e os componentes coloidais, cujos efeitos estruturais serão explorados nas análises de DLS, potencial zeta e reologia.

3.2.2.2 *Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas*

A análise de Espalhamento de Luz Dinâmico apresentada na Figura 20 evidencia as diferenças na distribuição de tamanho dos agregados formados nos sistemas 1:2 e 1:1 NaDC/Lecitina, na ausência e na presença de CMQ.

Figura 20 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaDC e lecitina



Para os sistemas compostos por NaDC, os resultados de distribuição de tamanho de partículas não se mostraram coerentes com as características visuais das amostras, uma vez que foram estimados tamanhos muito reduzidos, incompatíveis com a elevada turbidez observada, sendo indício de múltiplo espalhamento. Isso acontece quando o sistema está tão carregado de agregados grandes e instáveis que a luz incide em muitas partículas antes de chegar ao detector, invalidando o cálculo matemático de tamanho, mas confirmando a desestabilização por meio da autocorrelação. Assim, diante da falta de concordância entre as duas análises, optou-se por considerar apenas os resultados de autocorrelação na interpretação dos sistemas contendo NaDC.

Nos sistemas 1:2 NaDC/Lecitina, a análise das curvas de autocorrelação indica que, sem a adição de CMQ, o sistema apresenta partículas menores, com uma rápida queda no coeficiente de correlação. A adição de CMQ, especialmente na concentração de 2%, resulta em uma curva mais alongada, sugerindo a formação de partículas maiores. Para os sistemas 1:1 NaDC/Lecitina, observa-se que, com 0,5% de CMQ, a curva de autocorrelação apresenta uma curva com decaimento rápido, indicando a presença de partículas menores. Já a adição de 2% de CMQ provocou um alongamento da curva, refletindo a formação de partículas maiores ou agregados mais complexos (Bayati *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2013; Sabadini, 2024). O efeito da

CMQ nos sistemas NaDC/Lecitina pode estar associado à maior hidrofobicidade e menor caráter anfifílico do NaDC em comparação ao NaC, o que resulta na formação de agregados micelares menos estáveis e mais sensíveis à presença do polímero (Parekh *et al.*, 2023). Em baixas concentrações de CMQ, o polímero passou a interagir com as micelas, impedindo seu crescimento e favorecendo a formação de partículas menores. Em concentrações mais elevadas, a CMQ pode ter promovido a ligação entre agregados e favorecido a formação de partículas maiores ou estruturas mais complexas, independentemente da razão NaDC/Lecitina. Dessa forma, nota-se que interação entre a proporção de NaDC e lecitina, e a concentração de CMQ, influencia diretamente o comportamento e a estabilidade estrutural dos sistemas coloidais.

3.2.2.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaDC/Lecitina

As amostras de NaDC/Lecitina tiveram seus potenciais elétricos medidos e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%)

CMQ (%)	Potencial zeta (mV)	
	1:2	1:1
0	- 25,4	- 19,4
0,5	- 10,5	- 3,68
1	- 9,76	- 5,27
2	- 13,3	- 5,53

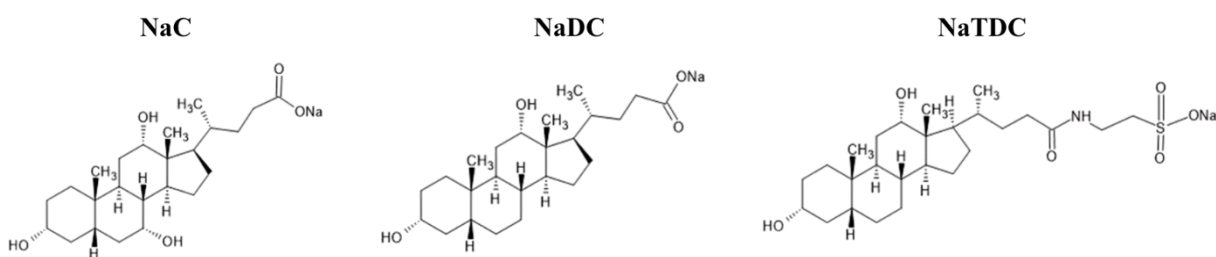
De forma geral, a análise de potencial zeta indica que a adição de CMQ promoveu a redução do módulo do potencial zeta em todos os sistemas em todos os sistemas NaDC/Lecitina, independentemente da proporção avaliada. Essa diminuição do potencial zeta reflete a atenuação das repulsões eletrostáticas entre os agregados, indicando menor estabilidade coloidal após a incorporação do polímero (Selvamani, 2019; Bhattacharjee *et al.*, 2010; Disalvo; Frias, 2021; De Gennes, 1990).

O sistema 1:1 NaDC/Lecitina sem adição do polímero apresentou precipitado (Figura 19), indicativo de instabilidade macroscópica e de tendência à separação de fases nessa razão molar. O potencial zeta obtido para esse sistema foi de $-19,4$ mV, valor situado na faixa de estabilidade moderada, o que, a princípio, aparenta contradizer a instabilidade observada visualmente. Contudo, essa discrepância pode ser explicada por dois fatores: (i) o potencial zeta quantifica apenas a componente eletrostática da estabilidade coloidal, não refletindo a contribuição de forças hidrofóbicas e de van der Waals que, nesse sistema, podem superar a

barreira repulsiva elétrica; e (ii) a amostra foi misturada antes da análise, resultando na ressuspensão temporária do material precipitado. Nessa condição, o equipamento mensura simultaneamente partículas estáveis e material ressuspensão, fornecendo um valor médio que não representa fielmente o estado real do sistema em repouso. Assim, o potencial zeta de $-19,4$ mV deve ser interpretado com cautela, uma vez que foi obtido em condições que não preservavam o estado de equilíbrio do sistema.

Observa-se que a redução do módulo do potencial zeta promovida pela CMQ é consistente tanto nos sistemas 1:2 quanto nos 1:1, embora a intensidade da redução dependa da composição do sistema. Assim, os resultados evidenciam que a CMQ atua, de maneira geral, na diminuição da estabilidade eletrostática dos sistemas coloidais estudados. No caso do NaDC, a menor quantidade de grupos hidroxila e a maior exposição do grupo carboxilato, Figura 21, na interface dos agregados favorecem essa interação com a CMQ (Parekh *et al.*, 2023).

Figura 21 – Estruturas química dos sais de bile estudados nesse trabalho, NaC, NaDC e NaTDC



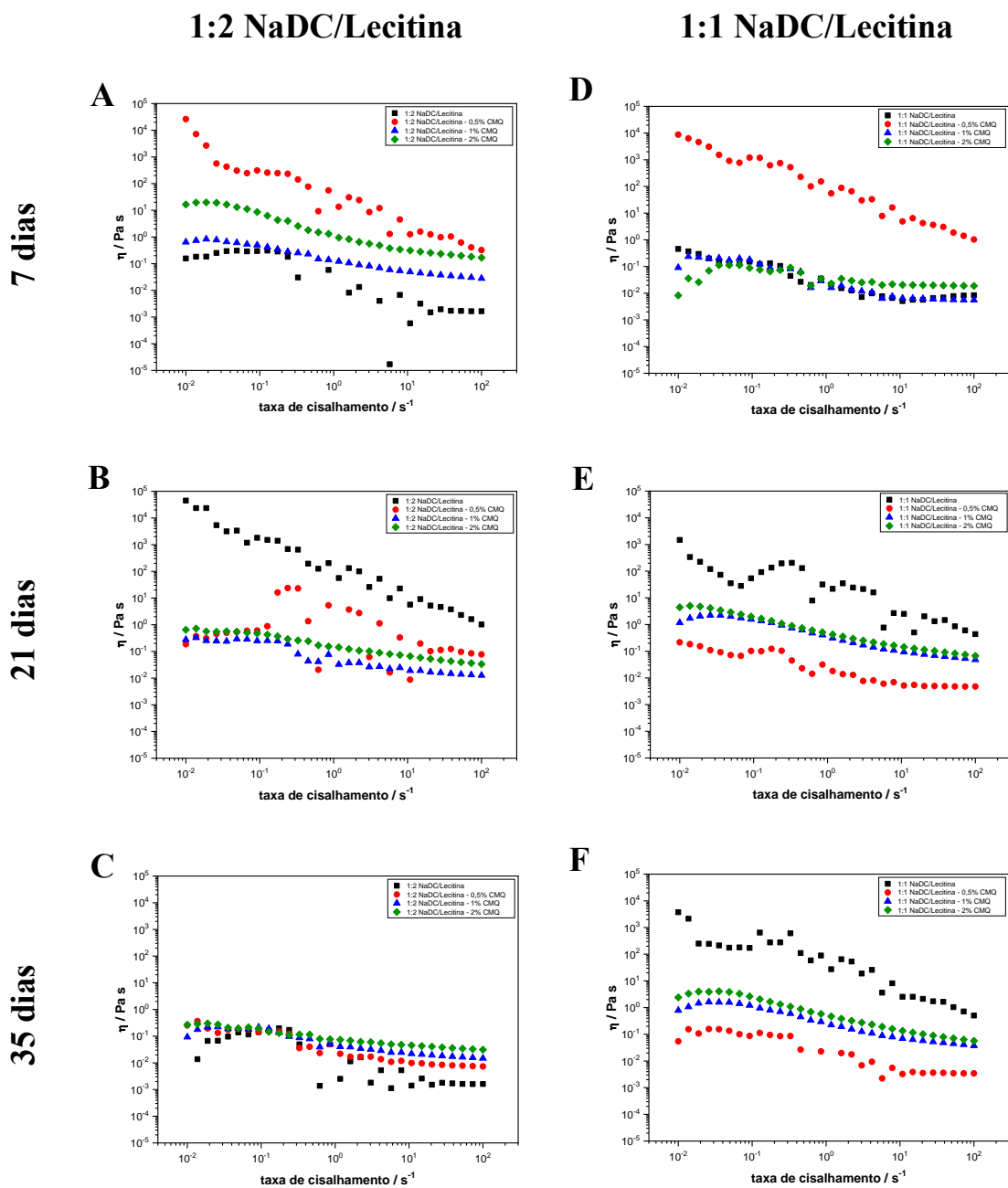
Fonte: Arquivo Pessoal

Esse comportamento é consistente com os resultados reportados por Massa, Compari e Fisticaro (2022), que demonstraram forte interação entre NaDC e pectina, atribuída à ausência de um grupo hidroxila adicional na estrutura do sal de bile. Por analogia, propõe-se que mecanismo semelhante ocorra no presente sistema. A ausência da hidroxila deixa o grupo COO^- do NaDC mais exposto e disponível para interações com o polímero (Mukherjee *et al.*, 2016). Assim, na proporção 1:1 NaDC/Lecitina, a alta densidade de NaDC na interface dos agregados gera um ambiente fortemente eletronegativo. A CMQ, que em solução apresenta coexistência de grupos carboximetila desprotonados (COO^-) e grupos amino parcialmente protonados ($-\text{NH}_3^+$), pode interagir, por meio desses grupos amino positivos, com os grupos carboxilato do NaDC, deslocando parte das moléculas de NaDC da interface micelar. Esse rearranjo reduziria a densidade de carga negativa superficial, diminuindo o módulo do potencial zeta e, consequentemente, enfraquecendo as forças repulsivas entre os agregados, o que favorece sua aproximação e resulta no aumento de tamanho observado (agregação).

3.2.2.4 Análise reológica dos autoagregados de NaDC/Lecitina

O gráfico referente ao ensaio rotacional, apresentado na Figura 22, mostra os resultados obtidos para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaDC/Lecitina e 1:1 NaDC/Lecitina.

Figura 22 – Curva de fluxo dos sistemas compostos por NaDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias



As curvas de fluxo dos sistemas NaDC/Lecitina confirmam um comportamento típico de fluidos não-newtonianos, caracterizados pela ocorrência dos fenômenos de *shear thinning*

e/ou *shear thickening*, em consonância com a literatura (Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000). Além disso, observa-se que o tempo exerceu uma influência significativa sobre os valores de viscosidade aparente medidos a uma taxa de cisalhamento de $0,01 \text{ s}^{-1}$, conforme apresentado na Tabela 9.

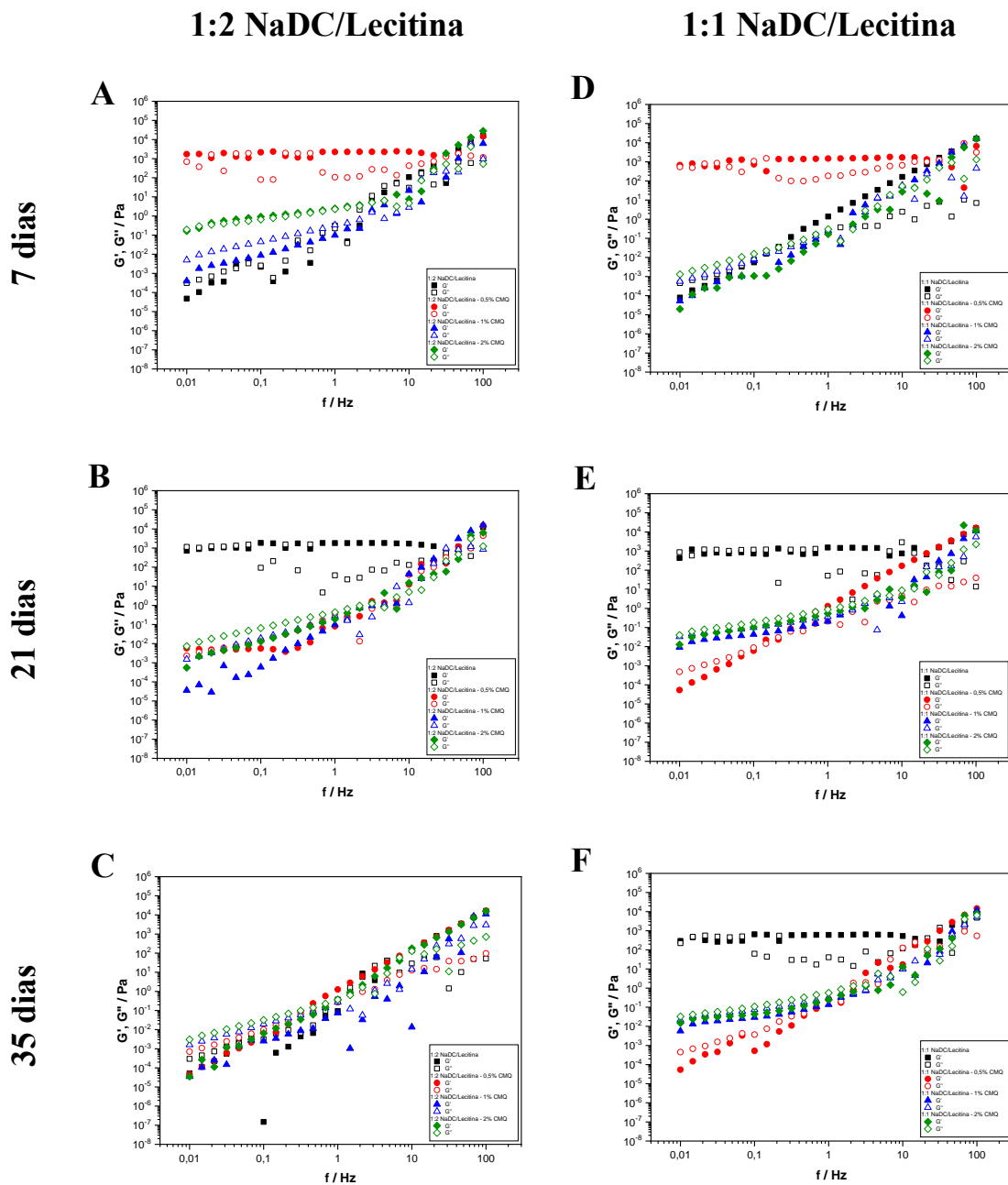
Tabela 9 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a $0,01 \text{ s}^{-1}$ para os sistemas NaDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento

CMQ (%)	η (Pa.s) após:					
	7 dias		21 dias		35 dias	
	1:2	1:1	1:2	1:1	1:2	1:1
0	0,158	0,455	44770	1479	0,011	3730
0,5	26170	8711	0,186	0,215	0,255	0,054
1	0,642	0,091	0,277	1,176	0,093	0,784
2	16,510	0,008	0,650	4,445	0,269	2,414

Em ambas as proporções (1:2 e 1:1), a presença de baixa concentração de CMQ (0,5%) favoreceu a formação de uma estrutura inicial mais organizada, refletida pelo aumento da viscosidade aparente (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020). No entanto, a quantidade de polímero é insuficiente para sustentar essas interações, levando à redução progressiva da viscosidade ao longo do armazenamento, indicando desestruturação das interações supramoleculares. Por outro lado, a adição de 1% e 2% de CMQ resultou em comportamentos distintos em função da proporção de NaDC. Nos sistemas 1:2 NaDC/Lecitina, concentrações mais elevadas de CMQ promoveram a redução da viscosidade aparente, evidenciando desestruturação dos agregados. Já nos sistemas 1:1 NaDC/Lecitina, essas concentrações favoreceram uma reorganização estrutural inicial. Com o passar do tempo, entretanto, todas as amostras contendo CMQ, independentemente da proporção de sal de bile, apresentaram diminuição progressiva da viscosidade, indicando perda de estabilidade das interações supramoleculares. Apenas o sistema 1:1 NaDC/Lecitina (controle) permaneceu com alta viscosidade aparente. Esse resultado pode estar associado ao comportamento reológico das soluções estoque de NaDC, nas quais a solução de maior concentração (100 mM) apresentou maior viscosidade aparente, favorecendo a formação e a estabilidade de estruturas micelares mais organizadas (Figura 1A – Apêndice A) (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000).

A Figura 23 mostra os resultados obtidos no ensaio dinâmico para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaDC/Lecitina e 1:1 NaDC/Lecitina.

Figura 23 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias



Em ambas as proporções de NaDC, a adição de 0,5% de CMQ promoveu um aumento inicial da viscoelasticidade, em que manteve comportamento elástico em uma ampla faixa de

frequência ($G' > G''$), indicando maior organização estrutural (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000). Provavelmente, como há poucas cadeias poliméricas nessa concentração, cada cadeia conseguiu se ligar a múltiplas micelas de NaDC/Lecitina, criando uma rede supramolecular maior e elástica. Entretanto, esse comportamento não se manteve ao longo do armazenamento, ocorrendo redução da viscoelasticidade.

Em concentrações mais elevadas de CMQ (1% e 2%), independentemente da proporção de sal de bile, os sistemas apresentaram comportamento predominantemente viscoso em baixas frequências ($G'' > G'$), com transição para resposta elástica em altas frequências, característica de sistemas formados por micelas gigantes, conforme descrito por Tung, Huang e Raghavan (2006) para misturas de sais de bile e lecitina, ainda que em meio orgânico. Apesar da diferença de solvente utilizado no trabalho mencionado, os sistemas aquosos contendo NaDC e lecitina apresentaram comportamento reológico semelhante. Uma hipótese que explica esses resultados é que, nessa faixa de concentração de CMQ, pode ter ocorrido a saturação superficial. Com mais polímero, cada micela é "revestida" pela CMQ, o que pode ter gerado repulsão entre os agregados, impedindo que se conectassem.

Após 21 dias, os sistemas controle de ambas as proporções de NaDC apresentaram comportamento típico de géis micelares, sendo que apenas o sistema controle na proporção 1:1 preservou esse comportamento ao longo do tempo. Na ausência do polímero, as micelas de NaDC/Lecitina provavelmente conseguiram atingir o equilíbrio de empacotamento ideal para formar micelas gigantes (Holmberg *et al.*, 2002). A inserção da CMQ na interface dos agregados pode ter ocasionado na repulsão entre os seus grupos carboxilatos e do NaDC, desestabilizando a estrutura alongada, e favorecendo agregados menores e menos viscosos (Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000). Dessa forma, como o sistema controle não tem essa repulsão devido à ausência do polímero, mantém sua rede de micelas gigantes entrelaçadas. De modo geral, os resultados mostram que cada proporção responde de maneira distinta à presença de CMQ, refletindo diferenças na organização dos agregados e na evolução temporal das redes supramoleculares formadas.

3.2.3 *Sistemas com Taurodeoxicolato de Sódio (NaTDC)*

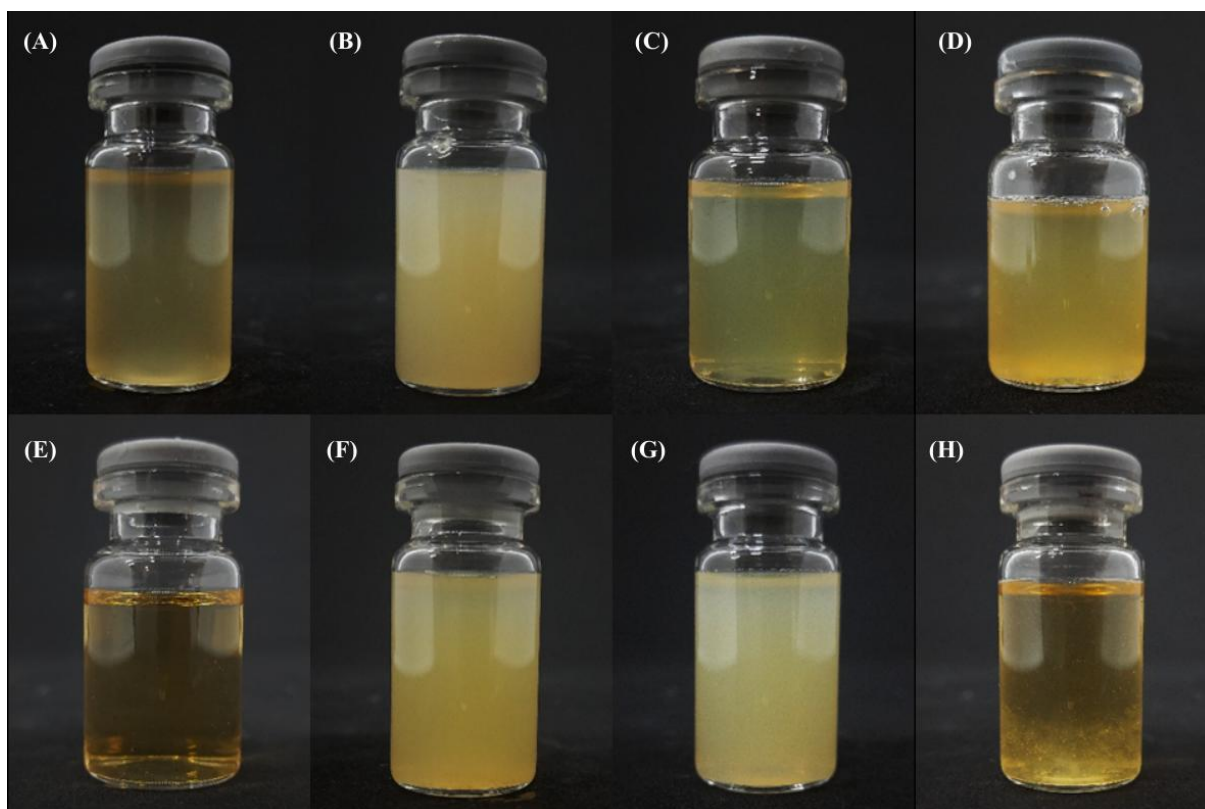
Nesta seção, são apresentados e discutidos os resultados obtidos para os sistemas coloidais contendo taurodeoxicolato de sódio em associação com a lecitina, na ausência e na presença de CMQ. O estudo foi conduzido considerando dois tipos de concentrações entre NaTDC e lecitina: 1:2 NaTDC/Lecitina e 1:1 NaTDC/Lecitina. Essa abordagem permitiu

avaliar como a variação da razão entre os componentes anfífilos influencia o comportamento estrutural e dinâmico dos sistemas, bem como os efeitos induzidos pela adição do polímero.

3.2.3.1 Aspectos Visuais

A Figura 24 apresenta os aspectos visuais dos sistemas preparados nas proporções 1:2 NaTDC/Lecitina e 1:1 NaTDC/Lecitina, na ausência e na presença de diferentes concentrações de CMQ. As imagens permitem uma avaliação preliminar das mudanças macroscópicas decorrentes tanto da variação na razão NaTDC/Lecitina quanto da incorporação do polímero, oferecendo indícios iniciais sobre possíveis alterações estruturais nos sistemas.

Figura 24 – Sistemas formados por NaTDC/Lecitina. (A) 1:2 NaTDC/Lecitina; (B) 1:2 NaTDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (C) 1:2 NaTDC/Lecitina – 1% CMQ; (D) 1:2 NaTDC/Lecitina – 2% CMQ; (E) 1:1 NaTDC/Lecitina; (F) 1:1 NaTDC/Lecitina – 0,5% CMQ; (G) 1:1 NaTDC/Lecitina – 1% CMQ; (H) 1:1 NaTDC/Lecitina – 2% CMQ



Fonte: Arquivo Pessoal

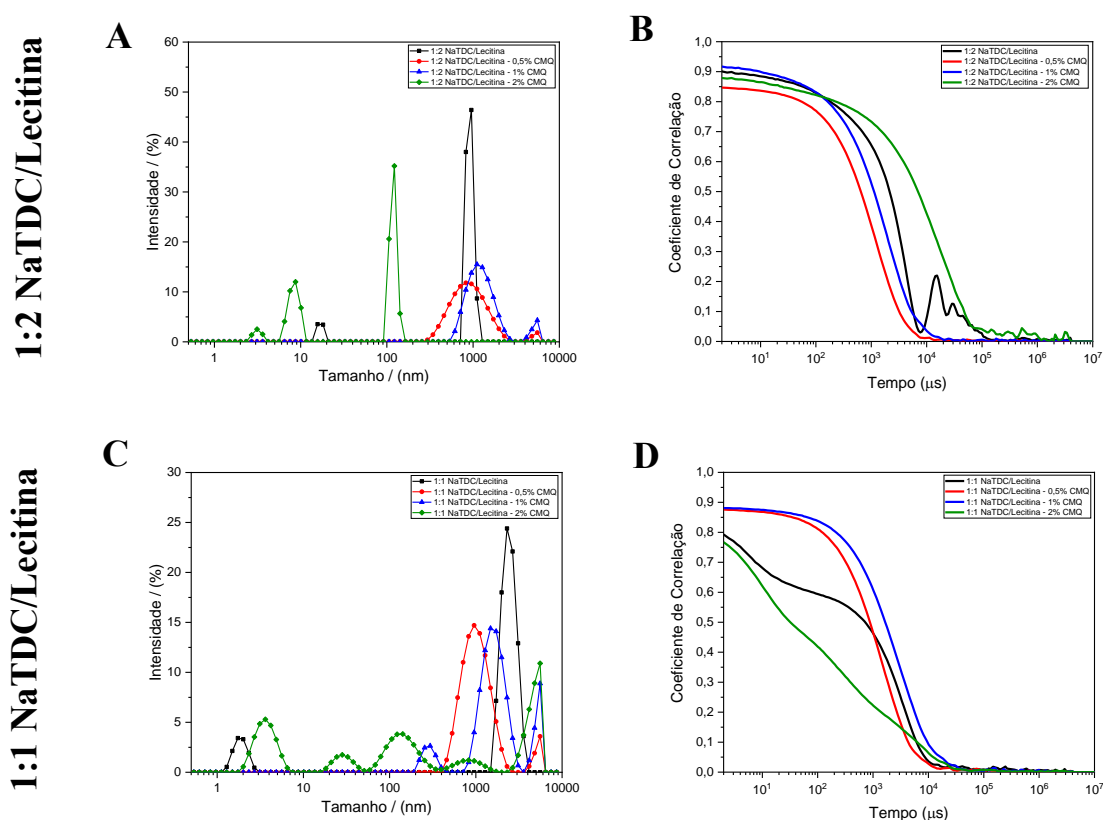
No sistema 1:2 NaTDC/Lecitina, observa-se que, na ausência de CMQ, a amostra apresenta aspecto translúcido. Com a adição de 0,5% de CMQ, há um aumento da turbidez, indicando alterações na organização coloidal. Ao elevar a concentração de CMQ para 1%, o sistema volta a apresentar uma aparência translúcida, sugerindo uma possível reorganização estrutural. Entretanto, na concentração de 2%, o sistema se torna túrbido e com coloração

amarelada. De forma semelhante, o sistema 1:1 NaTDC/Lecitina também apresenta aspecto translúcido na ausência de CMQ. Com a adição de 0,5% e 1% de CMQ, observa-se um aumento da turbidez, indicando alterações na organização coloidal. No entanto, na concentração de 2%, o aspecto translúcido se torna novamente mais evidente, com leve presença de partículas em suspensão, indicando uma possível reorganização das estruturas coloidais. Esses comportamentos sugerem que cada proporção de NaTDC e lecitina responde de modo distinto à presença do polímero, refletindo diferenças na organização e na estabilidade dos agregados formados, que serão discutidas nas próximas análises estruturais.

3.2.3.2 Efeito da CMQ sobre a distribuição do tamanho das partículas

A análise de Espalhamento de Luz Dinâmico apresentada na Figura 25 evidencia as diferenças na distribuição de tamanho dos agregados formados nos sistemas 1:2 e 1:1 NaTDC/Lecitina, na ausência e na presença de CMQ.

Figura 25 – Curvas de distribuição de tamanho hidrodinâmico e funções de autocorrelação determinadas por DLS para os sistemas coloidais formados por NaTDC e lecitina



Em ambas as formulações (1:2 e 1:1), as concentrações de 0,5% e 1% de CMQ resultaram em distribuições de tamanho semelhantes entre si, caracterizadas pela coexistência de populações de agregados de maiores dimensões. A adição de 2% de CMQ, em ambas as

proporções, levou a alterações mais pronunciadas, associadas a uma reorganização estrutural e à formação de agregados de menor tamanho (Bayati *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2013; Moraes; Pereira; Fonseca, 2012).

As curvas de autocorrelação dos sistemas 1:1 e 1:2 NaTDC corroboram com esses resultados, apresentando perfis semelhantes para os sistemas com 0,5% e 1% de CMQ e comportamentos mais complexos na concentração de 2%, associados à presença de múltiplas populações e a mudanças na dinâmica das partículas (Bayati *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2013). De forma geral, esses resultados demonstram que a proporção entre NaTDC e lecitina controla a maneira como a CMQ influencia a organização coloidal.

3.2.3.3 Potencial zeta dos autoagregados de NaTDC/Lecitina

As amostras de NaTDC/Lecitina tiveram seus potenciais elétricos medidos e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores de potencial zeta para as amostras compostas por NaTDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%)

CMQ (%)	Potencial zeta (mV)	
	1:2	1:1
0	- 23,2	- 13,3
0,5	- 21,2	- 16,7
1	- 20,5	- 14,9
2	- 28,5	- 16,5

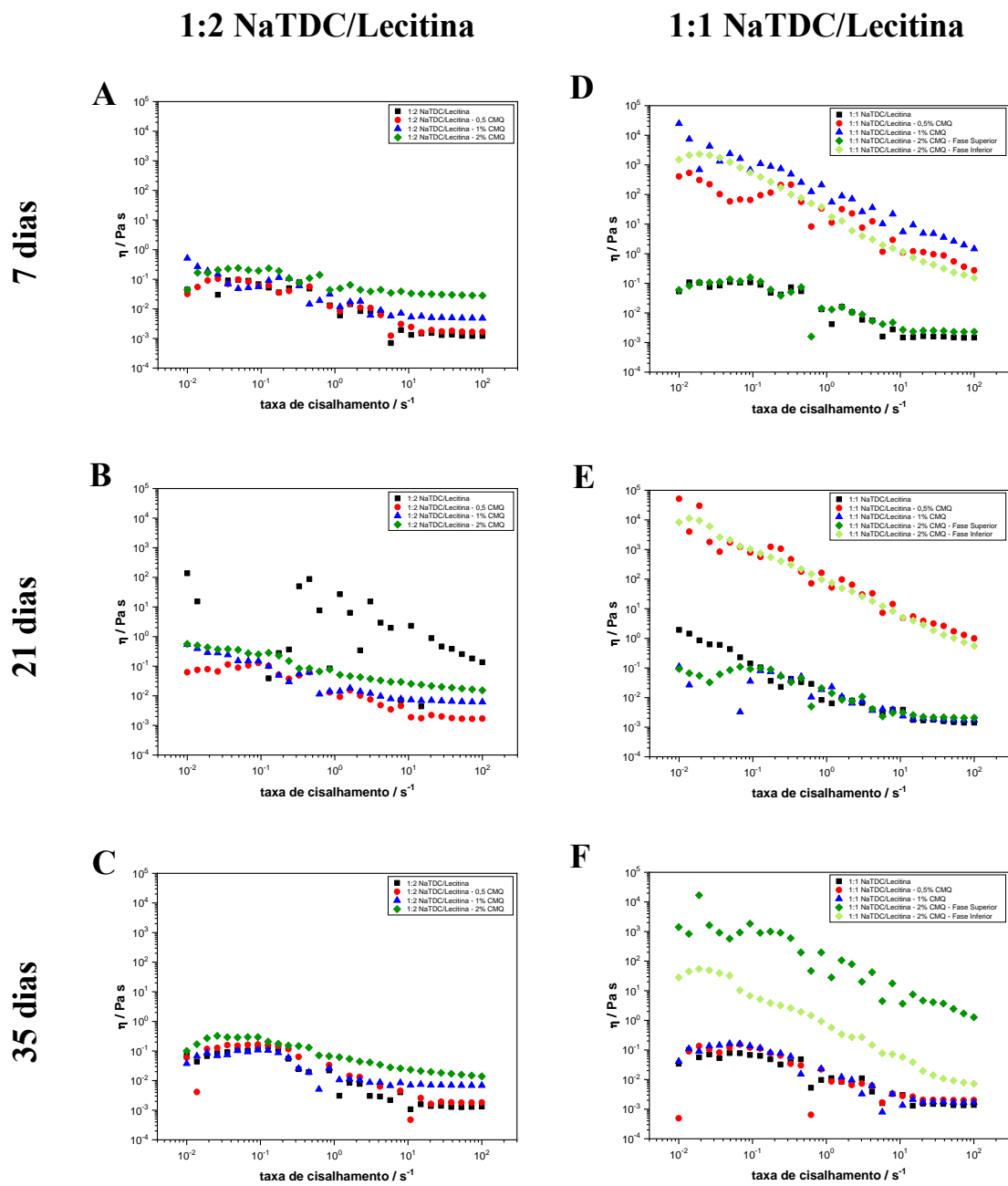
Nos sistemas 1:2 NaTDC/Lecitina, o sistema controle já apresenta boa estabilidade coloidal. A adição de CMQ em baixas concentrações promoveu apenas pequenas variações na carga superficial. Por outro lado, na concentração de 2% de CMQ, observa-se um aumento mais expressivo da carga negativa, indicando maior estabilização eletrostática do sistema. Para os sistemas 1:1 NaTDC/Lecitina, o potencial zeta do sistema controle é menor, refletindo uma menor estabilidade coloidal. A adição de CMQ promoveu um leve aumento em módulo do valor do potencial zeta em todas as concentrações avaliadas, sugerindo uma melhora da estabilidade, embora os valores permaneçam na faixa de baixa a moderada repulsão eletrostática (Bhattacharjee *et al.*, 2010; Disalvo; Frias, 2021; De Gennes, 1990). Esses resultados mostram que cada proporção de NaTDC e lecitina estabelece diferentes condições de interação com a CMQ, resultando em comportamentos distintos quanto à modulação da carga superficial e da estabilidade coloidal.

Hipóteses que podem explicar esse comportamento são: os sistemas 1:2 NaTDC/Lecitina com 0,5% e 1% de CMQ em que formaram populações de maiores dimensões (DLS) e a pouca alteração no potencial zeta sugerem que a CMQ se associou à superfície das micelas através de interações com a colina da lecitina (Agrawal et al., 2021). Na proporção equimolar (1:1), o potencial zeta do controle é menor (-13,3 mV), sugerindo uma organização estrutural diferente, possivelmente micelas gigantes menos carregadas na superfície. A adição de 2% de CMQ levou à formação de agregados menores. Isso sugere que o polímero está se intercalando nos sistemas micelas e "dividindo-os" em unidades menores e mais estáveis. O grupo sulfonato do NaTDC cria uma barreira de carga muito forte, o que dificulta que a CMQ neutralize completamente a micela. Por isso, não é perceptível a queda do potencial zeta que foi observado no NaDC.

3.2.3.4 *Análise reológica dos autoagregados de NaTDC/Lecitina*

O gráfico referente ao ensaio rotacional, apresentado na Figura 26, mostra os resultados obtidos para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaTDC/Lecitina e 1:1 NaTDC/Lecitina. Diferentemente dos sistemas avaliados anteriormente, o sistema 1:1 NaTDC/Lecitina contendo 2% de CMQ apresentou separação de fases visível após o preparo. A amostra se organizou em duas fases distintas, sendo uma delas visivelmente mais densa que a outra. Diante disso, foi necessária a realização de medições reológicas separadas para cada fase, a fim de se compreender as diferenças estruturais entre elas e comparar seus comportamentos.

Figura 26 – Curva de fluxo dos sistemas 1:2 NaTDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ – Fase Superior; (◇) adição de 2% CMQ – Fase Inferior. (A) primeira medição, (B) segunda medição e (C) terceira medição



As amostras apresentaram comportamento característico de fluidos não-newtonianos, evidenciado pela ocorrência dos fenômenos de *shear thinning* e/ou *shear thickening* (Macosko, 1994; Goodwin; Hughes, 2000). Além disso, observa-se que o tempo de armazenamento teve um impacto significativo sobre os valores de viscosidade aparente, especialmente quando avaliados em baixa taxa de cisalhamento ($0,01 \text{ s}^{-1}$), conforme apresentado na Tabela 11.

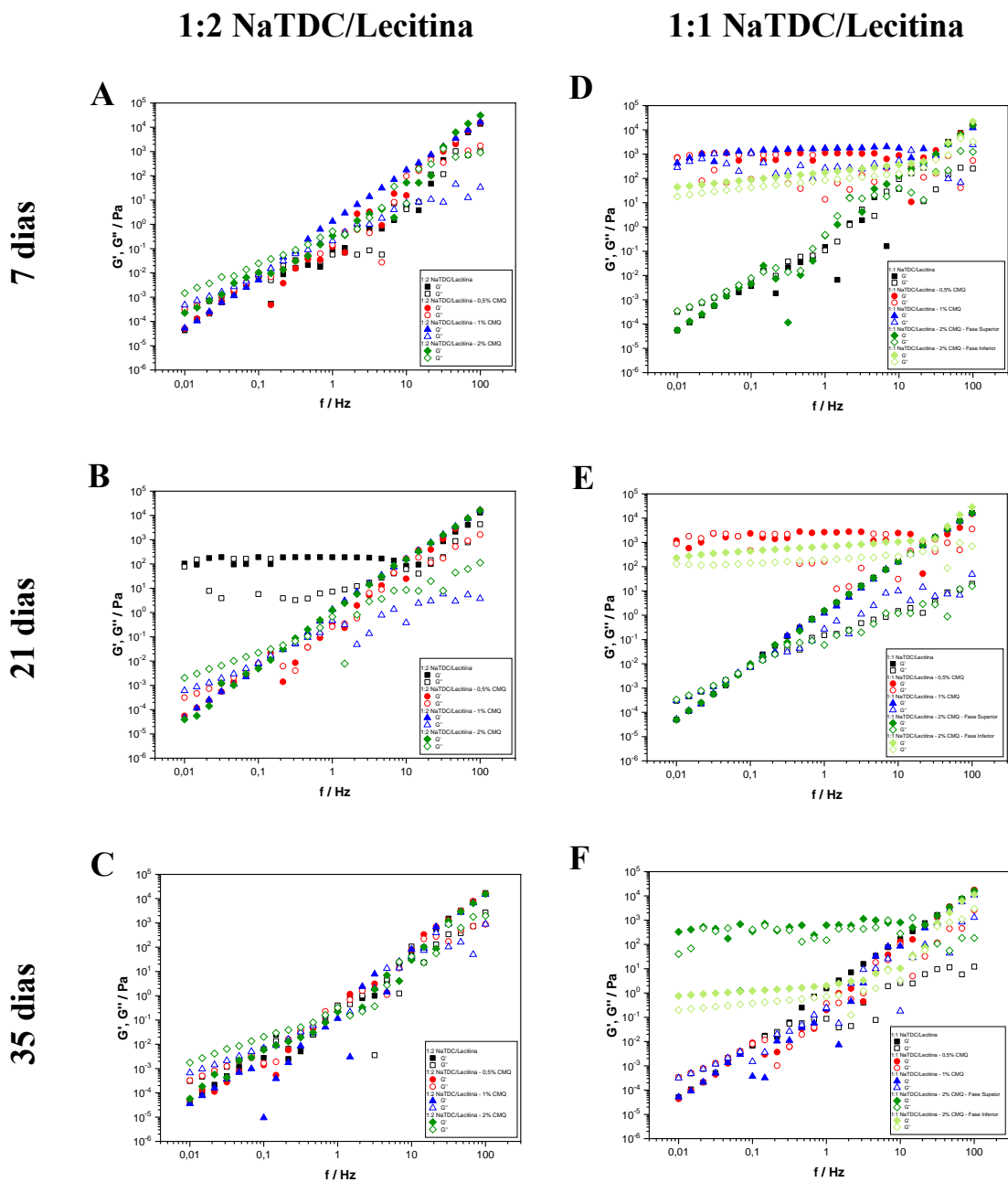
Tabela 11 – Valores de viscosidade aparente (η), em Pa.s, medidos a $0,01 \text{ s}^{-1}$ para os sistemas NaTDC/Lecitina nas proporções 1:2 e 1:1, com diferentes concentrações de CMQ (%), após 7, 21 e 35 dias de armazenamento. FS corresponde à Fase Superior e FI à Fase Inferior da amostra com separação de fases

CMQ (%)	η (Pa.s) após:					
	7 dias		21 dias		35 dias	
	1:2	1:1	1:2	1:1	1:2	1:1
0	0,045	0,054	138,2	1,929	0,073	0,034
0,5	0,032	407,3	0,062	51610	0,060	$4,91 \times 10^{-4}$
1	0,514	24800	0,539	0,111	0,038	0,041
2	0,044	0,059 - FS 1510 - FI	0,565	0,093 - FS 8288 - FI	0,101	1404 - FS 28 - FI

De forma geral, a adição de CMQ afeta o comportamento reológico dos sistemas de maneira distinta conforme a proporção NaTDC/Lecitina. Nos sistemas 1:2, a presença do polímero promoveu pequenas alterações na viscosidade, sem mudanças estruturais marcantes ao longo do tempo, indicando interações mais fracas entre a CMQ e os agregados supramoleculares. Em contraste, nos sistemas 1:1, a CMQ exerce um efeito muito mais pronunciado e dependente da concentração e do tempo. Concentrações intermediárias (0,5 e 1% de CMQ) favoreceram a formação inicial de redes viscoelásticas mais estruturadas, porém instáveis, enquanto que a adição de 2% resultou em uma reorganização mais complexa, incluindo separação de fases e concentração das estruturas organizadas na fração mais densa. Em ambos os sistemas, observa-se uma tendência geral de redução da viscosidade ao final do período de análise, sugerindo desestruturação progressiva das interações supramoleculares. Esses resultados evidenciam que a maior proporção de NaTDC nos sistemas 1:1 intensificou a interação com a CMQ, tornando o sistema mais sensível às variações de concentração do polímero, enquanto a maior fração de lecitina nos sistemas 1:2 confere maior estabilidade estrutural frente à adição de CMQ (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Francisco *et al.*, 2010; Jora; Sabadini; Raghavan, 2020).

A Figura 27 mostra os resultados obtidos no ensaio dinâmico para os sistemas formulados na proporção 1:2 de NaTDC/Lecitina e 1:1 NaTDC/Lecitina.

Figura 27 – Ensaio dinâmico dos sistemas de composição NaTDC/Lecitina, sendo (■) controle; (●) adição de 0,5% CMQ; (▲) adição de 1% CMQ; (◆) adição de 2% CMQ – Fase Superior; (◊) adição de 2% CMQ – Fase Inferior. Os símbolos cheios representam os módulos G' e os símbolos vazados representam os módulos G'' . Figuras referentes as amostras de proporção 1:2 NaTDC/Lecitina: (A) 7 dias, (B) 21 dias e (C) 35 dias. Figuras referentes as amostras de proporção 1:1 NaTDC/Lecitina: (D) 7 dias, (E) 21 dias e (F) 35 dias



De forma geral, os resultados dos ensaios oscilatórios corroboram os dados obtidos nos ensaios rotacionais e evidenciam que a resposta viscoelástica dos sistemas depende fortemente da proporção NaTDC/Lecitina e da presença de CMQ. Nos sistemas 1:2, a adição do polímero promoveu apenas alterações discretas no comportamento viscoelástico, mantendo características típicas de sistemas micelares ao longo do tempo. Embora o sistema controle presente, em determinados períodos, comportamento mais sólido associado à formação de micelas gigantes, essa organização não se mantém, indicando reorganização e desestruturação progressiva das redes micelares (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000). A grande quantidade de lecitina em relação ao sal de bile favoreceu a formação

de agregados menores (micelas curtas ou vesículas). Nessas estruturas, a CMQ não conseguiu estabelecer interações eficazes. Como o NaTDC possui um grupo sulfonato ionizado e volumoso (Kong *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016), ele "blinda" a superfície da lecitina de forma tão eficiente que a CMQ sofre repulsão eletrostática e não consegue se adsorver ou penetrar na interface. O polímero permanece majoritariamente livre na solução, sem alterar a reologia do sistema. Além disso, embora as soluções estoque de lecitina e de NaTDC 50 mM apresentem comportamento predominantemente viscoelástico quando analisadas separadamente, a mistura desses componentes no sistema resultou em um comportamento mais viscoso (Figura 2A – Apêndice A).

Nos sistemas 1:1, a CMQ exerce um efeito muito mais pronunciado, induzindo a formação de estruturas viscoelásticas mais organizadas, com predominância de comportamento sólido ($G' > G''$), típico de géis de micelas gigantes (Barnes; Hutton; Walters, 1993; Macosko, 1994; Goodwin & Hughes, 2000). Além disso, esses sistemas apresentam maior complexidade estrutural ao longo do tempo, com evidências de reorganização, aumento do tempo de relaxação e separação de fases em concentrações mais altas de CMQ. Provavelmente, a densidade de carga e o volume ocupado por 2% de CMQ tornaram o sistema instável, resultando na divisão de fases. Assim, os resultados demonstram que o aumento da fração de NaTDC intensifica as interações com a CMQ, tornando os sistemas mais sensíveis a variações de concentração do polímero e ao tempo de armazenamento. Na proporção 1:1, as micelas já têm tendência ao crescimento. Devido à forte carga negativa do NaTDC, a CMQ se posiciona de forma a se ligar as micelas gigantes, criando um emaranhado denso. A sensibilidade das propriedades reológicas à proporção entre os componentes e à presença de aditivos (como a CMQ) reflete a natureza dinâmica das interações supramoleculares nesses sistemas, discutida por Cheng *et al.* (2014) no contexto de transições entre micelas esféricas e micelas gigantes.

3.2.4 Efeito da Estrutura dos Sais de bile na Interação com a Carboximetilquitosana

Os resultados obtidos demonstram que o comportamento dos sistemas coloidais formados por lecitina, sais de bile e CMQ é diretamente influenciado pelas diferenças estruturais entre os sais de bile estudados: NaC, NaDC e NaTDC. Embora todos apresentem o mesmo núcleo esteroide, variações no número de grupos hidroxila e no tipo de conjugação modificam suas interações com a lecitina e com o polímero. O NaC possui três grupos hidroxila em sua estrutura, o que lhe confere caráter mais hidrofílico (Kong *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016; Parekh *et al.*, 2023). Essa característica favorece interações mais superficiais com os agregados de lecitina e reduz a tendência a interações hidrofóbicas intensas. Como

consequência, a adição de CMQ aos sistemas contendo NaC promoveu maior estabilidade coloidal, evidenciada pelo aumento do módulo do potencial zeta e por mudanças controladas no tamanho dos agregados. Nesses sistemas, a CMQ atua principalmente como agente estabilizante, adsorvendo-se à interface e aumentando a repulsão eletrostática entre as partículas, sem provocar desorganização da estrutura.

O NaDC, por sua vez, apresenta apenas dois grupos hidroxila, tornando-o mais hidrofóbico (Kong *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016; Parekh *et al.*, 2023). Essa menor polaridade favorece interações mais fortes com a lecitina e também com a CMQ. Nos sistemas contendo esse sal, a adição do polímero levou à redução do potencial zeta, especialmente na proporção 1:1, indicando neutralização das cargas superficiais. Essa condição favoreceu a agregação e a formação de estruturas menos estáveis (Selvamani, 2019; Bhattacharjee *et al.*, 2010; Disalvo; Frias, 2021; De Gennes, 1990). Os resultados de DLS e reologia reforçam esse comportamento, mostrando crescimento desordenado dos agregados e a desestruturação da rede viscoelástica ao longo do tempo. Assim, no caso do NaDC, as interações entre CMQ e o sistema coloidal são intensas, comprometendo a estabilidade estrutural.

O NaTDC, por sua vez, apresenta um grupo sulfonato fortemente ionizado. Essa característica confere ao NaTDC elevada densidade de carga negativa e maior barreira eletrostática (Kong *et al.*, 2023; Mukherjee *et al.*, 2016; Parekh *et al.*, 2023). Como resultado, mesmo após a adição da CMQ, o potencial zeta manteve valores elevados. Nesse sistema, a CMQ promoveu alterações importantes no tamanho dos agregados e na viscosidade, especialmente na proporção 1:1, sugerindo reorganização estrutural das micelas. Em maiores concentrações de CMQ (2%), a combinação da alta densidade de cargas negativas do grupo sulfonato com as cargas do polímero intensificou as repulsões eletrostáticas, levando à separação de fases.

De modo geral, a CMQ interage com os sistemas coloidais por um equilíbrio entre interações eletrostáticas e hidrofóbicas, sendo esse equilíbrio fortemente dependente da estrutura do sal de bile. Enquanto o NaC favorece sistemas mais estáveis e com partículas menores, o NaDC tende a formar estruturas maiores com menor estabilidade coloidal, e o NaTDC a produzir sistemas com elevada viscosidade ou separação de fases em função da presença do grupo sulfonato.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Síntese dos principais resultados e planejamento das atividades futuras

4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho investigou a influência da carboximetilquitosana na estrutura e nas propriedades de sistemas coloidais autoassociados formados por lecitina e diferentes sais de bile (NaDC, NaC e NaTDC). A CMQ foi obtida por três metodologias distintas, sendo a amostra CMQ-M1 selecionada para a continuidade dos estudos, uma vez que apresentou o desempenho mais favorável, reunindo maior rendimento (52,75%), bandas mais intensas associadas aos grupos carboximetila e maior cristalinidade com valor de 55,60%, além de melhor solubilidade em água quando comparada às demais amostras.

Os sistemas sal de bile/lecitina foram estudados em duas proporções (1:1 e 1:2), e os efeitos da adição de CMQ-M1 foram avaliados por DLS, potencial zeta e reologia. Os resultados evidenciaram que sistemas contendo NaC apresentaram maior estabilidade coloidal, tornando-se promissores para aplicações que exigem estabilidade prolongada. Já os sistemas com NaDC mostraram-se mais sensíveis à adição do polímero, com tendência à agregação e perda de estrutura, o que pode ser explorado em aplicações onde a resposta rápida ou a desestruturação controlada seja desejável. Por sua vez, os sistemas contendo NaTDC destacaram-se pela elevada capacidade de reorganização estrutural e aumento de viscosidade, indicando potencial para o desenvolvimento de sistemas responsivos e formulações com propriedades ajustáveis.

Esses resultados demonstram a importância da composição química do sal de bile na interação com a CMQ, evidenciando que diferentes características estruturais (como número de grupos hidroxila ou tipo de conjugação) impactam diretamente na formação e organização dos agregados. A partir disso, é possível concluir que a adição de CMQ pode ser uma ferramenta eficaz para modular propriedades viscoelásticas e estruturais de sistemas coloidais com potencial aplicação em formulações farmacêuticas e biomateriais, em especial naqueles que exigem controle da estabilidade e da estrutura em solução aquosa.

4.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a complexidade dos sistemas coloidais formados por lecitina e diferentes sais de bile na presença de CMQ, bem como o papel fundamental da composição e da concentração dos componentes na organização estrutural e no comportamento reológico desses sistemas. Nesse contexto, diversas abordagens podem ser

exploradas em estudos futuros com o objetivo de aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos e ampliar as possíveis aplicações desses materiais.

Investigações adicionais podem avaliar o efeito de parâmetros físico-químicos, como pH e força iônica, uma vez que esses fatores influenciam diretamente as interações eletrostáticas entre o polímero e os agregados micelares, podendo alterar a estabilidade e a dinâmica dos sistemas. Da mesma forma, avaliação de uma faixa mais ampla de concentrações de CMQ, bem como a utilização das diferentes CMQs sintetizadas neste estudo, com distintos graus de substituição e características estruturais, permitiria identificar limites de concentração e de composição nos quais o polímero passa de um papel estruturante, promovendo associação e organização dos agregados, para um papel desestruturante, no qual o polímero passa a dificultar a interação entre micelas, resultando em sistemas menos organizados.

Além disso, a utilização de técnicas estruturais complementares, como espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS), microscopia eletrônica de transmissão criogênica (cryo-TEM) ou microscopia de força atômica (AFM), poderia fornecer informações mais detalhadas sobre a morfologia, o tamanho real e a organização supramolecular dos agregados, contribuindo para a correlação entre estrutura e propriedades reológicas. Nesse sentido, a compreensão aprofundada das interações moleculares e da organização supramolecular é condição fundamental para pressupor aplicações tecnológicas e biomédicas desses sistemas: somente com o conhecimento detalhado de como os componentes se organizam, interagem e respondem a estímulos externos é possível orientar, de forma racional, o desenvolvimento de sistemas coloidais funcionais para fins como encapsulação e liberação controlada de fármacos, veiculação de compostos bioativos e formulações para a indústria alimentícia ou farmacêutica.

Considerando o caráter biocompatível dos componentes estudados, trabalhos futuros podem ser direcionados à avaliação do potencial de aplicação farmacêutica desses sistemas, incluindo ensaios de encapsulação de fármacos, eficiência de carregamento, estabilidade durante o armazenamento e perfis de liberação controlada. Essas investigações poderão ampliar o entendimento fundamental desenvolvido neste trabalho e contribuir para o desenvolvimento de sistemas coloidais funcionais com aplicações tecnológicas e biomédicas promissoras.

Além disso, é fundamental que a CMQ seja investigada de forma mais aprofundada quanto às suas características estruturais e composicionais. Em estudos futuros, etapas adicionais de purificação devem ser consideradas, visando à remoção de sais residuais, especialmente o NaCl formado durante a síntese, uma vez que sua presença pode interferir nas propriedades físico-químicas e no comportamento reológico dos sistemas coloidais. Adicionalmente, a aplicação de técnicas de caracterização complementar da síntese, como

espectroscopia de RMN de ^1H , permitiria confirmar a estrutura química, a eficiência da carboximetilação e a homogeneidade do polímero obtido. De maneira análoga, o grau de pureza da lecitina utilizada constitui outro fator que pode influenciar os resultados obtidos nos sistemas coloidais. A lecitina empregada neste trabalho apresentou teor de base colina de 19%, indicando que se trata de uma lecitina bruta composta por uma mistura de fosfolipídios em proporções variáveis. Diferentes fosfolipídios possuem geometria molecular e parâmetro crítico de empacotamento (CPP) distintos, o que influencia diretamente a curvatura espontânea, a morfologia dos agregados formados e a dinâmica de interação com os sais de bile. Essas abordagens contribuiriam para estabelecer correlações mais robustas entre a estrutura da CMQ e seu efeito sobre a organização supramolecular e o comportamento reológico dos sistemas estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAEN, R. *et al.* The potential of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils as rheology modifiers in food systems. **Cellulose**, v. 26, p. 5483–5496, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02448-3>.
- ABBAS, H. *et al.* 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112299>.
- ABREU, F. R.; CAMPANA-FILHO, S. P. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 2, p. 214-221, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.06.009>.
- ACHARYA, D. P.; KUNIEDA, H. Wormlike micelles in mixed surfactant solutions. **Advances in colloid and interface science**, v. 123, p. 401-413, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.024>.
- AGRAWAL, N. R. *et al.* Spontaneous formation of stable vesicles and vesicle gels in polar organic solvents. **Langmuir**, v. 37, n. 26, p. 7955-7965, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00628>.
- AHIRE, S. A. *et al.* The Augmentation of nanotechnology era: A concise review on fundamental concepts of nanotechnology and applications in material science and technology. **Results in Chemistry**, v. 4, p. 100633, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100633>.
- AIPING, Z.; JIANHONG, L.; WENHUI, Y. Effective loading and controlled release of camptothecin by O-carboxymethylchitosan aggregates. **Carbohydrate polymers**, v. 63, n. 1, p. 89-96, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.08.006>.
- ALAM, M. M. *et al.* Phase behavior and rheology of oilswollen micellar cubic phase and gel emulsions in nonionic surfactant systems. **Journal of colloid and interface science**, v. 341, n. 2, p. 267-272, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.09.047>.
- AL HARRAQ, A.; BHARTI, B. Microplastics through the lens of colloid science. **ACS Environmental Au**, v. 2, n. 1, p. 3-10, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.1c00016>.
- ALIMI, B. A. *et al.* Extraction, quantification, characterization, and application in food packaging of chitin and chitosan from mushroom: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 124195, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124195>.
- AL-REMAWI, M. *et al.* Chitosan/lecithin liposomal nanovesicles as an oral insulin delivery system. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 22, n. 3, p. 390-398, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10837450.2016.1213745>.
- AL-SOUFI, W.; NOVO, M. A surfactant concentration model for the systematic determination of the critical micellar concentration and the transition width. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5339, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26175339>.
- AMORIN-DA-SILVA, B. C. *et al.* Chitosan-coated paper packaging for specialty coffee beans: Coating characterization, bean and beverage analysis. **Food Research International**, v. 188, p. 114467, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114467>.

AN, N. T.; THIEN, D. T.; DONG, N. T.; LE DUNG, P. Water-soluble N-carboxymethylchitosan derivatives: Preparation, characteristics and its application. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 3, p. 489-497, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.08.017>.

ARDEAN, C. *et al.* Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7449, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22147449>.

ARLETH, L. *et al.* Growth behavior of mixed wormlike micelles: a small-angle scattering study of the lecithin-bile salt system. **Langmuir**, v. 19, n. 10, p. 4096-4104, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/la026808+>.

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. 3 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

BAN, Z. *et al.* Efficient production of fungal chitosan utilizing an advanced freeze-thawing method; quality and activity studies. **Food hydrocolloids**, v. 81, p. 380-388, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.010>.

BARNES H. A.; HUTTON J. F.; WALTERS K. F. R. S., **An Introduction to Rheology**, 3rded., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1993.

BASHYAL, S. *et al.* Bile acid transporter-mediated oral absorption of insulin via hydrophobic ion-pairing approach. **Journal of Controlled Release**, v. 338, p. 644-661, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.08.060>.

BAYATI, S. *et al.* Effects of temperature and salt addition on the association behavior of charged amphiphilic diblock copolymers in aqueous solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 36, p. 11386-11395, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp306833x>.

BEG, S. *et al.* Implications of phospholipid-based nanomixed micelles of olmesartan medoxomil with enhanced lymphatic drug targeting ability and systemic bioavailability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 62, p. 102273, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102273>.

BHATTACHARJEE, J. *et al.* Tween 80– sodium deoxycholate mixed micelles: Structural characterization and application in doxorubicin delivery. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 49, p. 16414-16421, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp108225r>.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential—what they are and what they are not? **Journal of controlled release**, v. 235, p. 337-351, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>.

BILBAO-SAINZ, C. *et al.* Vitamin D-fortified chitosan films from mushroom waste. **Carbohydrate polymers**, v. 167, p. 97-104, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.010>.

BINDU, P.; THOMAS, S. Estimation of lattice strain in ZnO nanoparticles: X-ray peak profile analysis. **Journal of Theoretical and Applied Physics**, v. 8, n. 4, p. 123-134, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40094-014-0141-9>.

BIRRU, W. A. *et al.* Digestion of phospholipids after secretion of bile into the duodenum changes the phase behavior of bile components. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, p. 2825-2834, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/mp500193g>.

- BUKIET, F. *et al.* Wetting properties and critical micellar concentration of benzalkonium chloride mixed in sodium hypochlorite. **Journal of endodontics**, v. 38, n. 11, p. 1525-1529, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.07.008>.
- CADETE, A. *et al.* Development and characterization of a new plasmid delivery system based on chitosan–sodium deoxycholate nanoparticles. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 45, n. 4, p. 451-458, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2011.09.018>.
- CAN, A.; TYLER, A. I.; MACKIE, A. R. Potential use of bile salts in lipid self-assembled systems for the delivery of phytochemicals. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 56, p. 101502, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101502>.
- CASTRO, B. *et al.* 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. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00443-X](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00443-X).
- CATES, M. E.; CANDAU, S. J. Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. **Journal of Physics Condensed Matter** 2, p. 6869-6892, 1990. DOI: 10.1088/0953-8984/2/33/001.
- CAUTELA, J. *et al.* Wormlike reverse micelles in lecithin/bile salt/water mixtures in oil. **Colloids and Surfaces A**, v. 532, p. 411-419, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.052>.
- CHEBL, M. *et al.* Two modes of associations of curcumin with pre-and nanoaggregated chitosan oligosaccharide lactate: ionic strength and hydrophobic bile salt modulate partition of drug and self-assembly process. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 120, n. 20, p. 11210-11224, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b01486>.
- CHEN, J. *et al.* The nano antibacterial composite film carboxymethyl chitosan/gelatin/nano ZnO improves the mechanical strength of food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 220, p. 462-471, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.005>.
- CHEN, L. *et al.* O-carboxymethyl chitosan in biomedicine: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 133465, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133465>.
- CHEN, X-G.; PARK, H-J. Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 4, p. 355-359, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00051-1](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00051-1).
- CHENG, C. Y. *et al.* Mixtures of lecithin and bile salt can form highly viscous wormlike micellar solutions in water. **Langmuir**, v. 30, n. 34, p. 10221-10230, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/la502380q>.
- CHENG, C. Y.; WANG, T. Y.; TUNG, S. H. Biological hydrogels formed by swollen multilamellar liposomes. **Langmuir**, v. 31, p. 13312-13320, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03267>.
- CHOI, C.; NAM, J-P.; NAH, J-W. Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 33, p. 1-10, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.10.028>.
- CHU, Z.; DREISS, C. A.; FENG, Y. Smart Wormlike Micelles. **Chem. Soc. Rev.**, v. 42, p. 7174-7203, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CS35490C>.

CUSSLER, E. L.; DUNCAN, C. L. Activities and viscosities of aqueous bile acid salt-lecithin solutions. **Journal of Solution Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 269-277, 1972. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00645106>.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. Editora Blucher, 2011.

DE GENNES, P. G. **Introduction to polymer dynamics**, Cambridge University Press, Cambridge, 1990.

DI GREGORIO, M. C.; CAUTELA, J.; GALANTINI, L. Physiology and physical chemistry of bile acids. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 4, p. 1780, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22041780>.

DI GREGORIO, M. *et al.* Supramolecular assembly of a thermoresponsive steroidal surfactant with an oppositely charged thermoresponsive block copolymer. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 2, p. 1504-1515, 2017.

DISALVO, A.; FRIAS, M. A. Surface Characterization of Lipid Biomimetic Systems. **Membranes**, v. 11, n. 11, p. 821, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/membranes11110821>.

DONKERS, J. M.; ABBING, R. L. P. R.; VAN DE GRAAF, S. F. J. Developments in bile salt based therapies: a critical overview. **Biochemical Pharmacology**, v. 161, p. 1-13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.12.018>.

DREISS, C. A. Wormlike micelles: where do we stand? Recent developments, linear rheology and scattering techniques. **Soft matter**, v. 3, n. 8, p. 956-970, 2007.

DUAN, Z.; HOU, S. Rheological properties of fresh recycled concrete. In: **Multi-Functional Concrete with Recycled Aggregates**. Woodhead Publishing, 2023. p. 59-83.

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

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.

EGELHAAF, S. U.; SCHURTENBERGER, P. A time-resolved small angle neutron scattering study of the micelle-to-vesicle transition. **Physica B**, v. 234, p. 276-278, 1997.

EGELHAAF, S. U.; SCHURTENBERGER, P. Shape transformations in the lecithin-bile salt system: from cylinders to vesicles. **J. Phys. Chem.**, v. 98, n. 34, p. 8560-8573, 1994.

EISING, R. *et al.* Formação de micelas mistas entre o sal biliar colato de sódio e o surfactante aniônico dodecanoato de sódio. **Química Nova**, v. 31, p. 2065-2070, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000800029>.

EL-ARABY, A. *et al.* Chitosan, chitosan derivatives, and chitosan-based nanocomposites: Eco-friendly materials for advanced applications (a review). **Frontiers in Chemistry**, v. 11, p. 1327426, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1327426>.

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

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

- FRANCISCO, K. R. *et al.* Effect of monomeric and polymeric co-solutes on cetyltrimethylammonium bromide wormlike micelles: Rheology, Cryo-TEM and Small-angle neutron scattering. **Journal of colloid and interface science**, v. 345, n. 2, p. 351-359, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.01.086>.
- FRANCISCO, K. R. *et al.* Tuning the viscoelastic properties of bis (urea)-based supramolecular polymer solutions by adding cosolutes. **Langmuir**, v. 28, n. 41, p. 14531-14539, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/la3025606>.
- FU, H. *et al.* Preparation and mechanism of pH and temperature stimulus-responsive wormlike micelles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 624, p. 126788, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126788>.
- FUKUSHIMA, K. *et al.* Modification of turbulence caused by cationic surfactant wormlike micellar structures in two-dimensional turbulent flow. **Journal of Fluid Mechanics**, v. 933, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1017/jfm.2021.1058>.
- GARCIA-RIO, L.; BASILIO, N. Supramolecular surfactants derived from calixarenes. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 44, p. 225-237, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.11.004>
- GE, H. C.; LUO, D. K. Preparation of carboxymethyl chitosan in aqueous solution under microwave irradiation. **Carbohydrate research**, v. 340, n. 7, p. 1351-1356, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.02.025>.
- GENG, Y. *et al.* Recent advances in carboxymethyl chitosan-based materials for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 305, p. 120555, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120555>.
- GHADI, A. *et al.* Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles: Potential applications in nanomedicine and biomedical engineering. **Caspian journal of internal medicine**, v. 5, n. 3, p. 156, 2014.
- GIL, K. A. *et al.* Evaluation of an innovative sheep cheese with antioxidant activity enriched with different thyme essential oil lecithin liposomes. **LWT**, v. 154, p. 112808, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112808>.
- GIUNCHEDI, P. *et al.* Preparation and characterization of ampicillin loaded methylpyrrolidinone chitosan and chitosan microspheres. **Biomaterials**, v. 19, n. 1-3, p. 157-161, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00181-6).
- GOODWIN, J. W.; HUGHES, R. W. Rheology for chemists-An introduction, **The Royal Society of Chemistry**, London, 2000.
- GOYAL, M.; SINGH, M. Size and shape dependence of optical properties of nanostructures. **Applied Physics A**, v. 126, n. 3, p. 176, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00339-020-3327-9>.
- GROENEN, C. C. J. *et al.* Bile salt signaling and bile salt-based therapies in cardiometabolic disease. **Clinical Science**, v. 138, n. 1, p. 1-21, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20230934>.
- GURUGE, A. G. *et al.* Molecular dynamics simulation studies of bile, bile salts, lipid-based drug formulations, and mRNA-lipid nanoparticles: A review. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 6, p. 2781-2800, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.3c00049>.

GUTIÉRREZ-MÉNDEZ, N.; CHAVEZ-GARAY, D. R.; LEAL-RAMOS, M. Y. Lecithins: A comprehensive review of their properties and their use in formulating microemulsions. **Journal of food biochemistry**, v. 46, n. 7, p. e14157, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfbc.14157>.

HAFNER, A. *et al.* Lecithin/chitosan nanoparticles for transdermal delivery of melatonin. **Journal of microencapsulation**, v. 28, n. 8, p. 807-815, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3109/02652048.2011.622053>.

HANIO, S. *et al.* Drug-Induced Dynamics of Bile Colloids. **Langmuir**, v. 37, n. 8, p. 2543-2551, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c02282>.

HARASYM, J.; BANAS, K. Lecithin's roles in oleogelation. **Gels**, v. 10, n. 3, p. 169, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels10030169>.

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

HASSANI, E.; HOSSEINPOUR, N.; BIDGOLI, H. Swelling Behavior of Carboxymethylchitosan-Based Nanocomposite Hydrogels in Response to Different Stimuli (Salinity, pH, and Temperature) and the Gels' Microfluidic Capability for Water Shut-Off Applications. **Energy & Fuels**, v. 38, n. 5, p. 3645-3655, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.3c04319>.

HOLMBERG, K. *et al.* **Polymers in aqueous solution**. Wiley-Blackwell, 2002.

IBRAHIM, H. M.; REDA, M. M.; KLINGNER, A. Preparation and characterization of green carboxymethylchitosan (CMCS)-Polyvinyl alcohol (PVA) electrospun nanofibers containing gold nanoparticles (AuNPs) and its potential use as biomaterials. **International journal of biological macromolecules**, v. 151, p. 821-829, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.174>.

ISLAM, M. M. *et al.* Carboxymethyl chitin and chitosan derivatives: Synthesis, characterization and antibacterial activity. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 5, p. 100283, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100283>.

ITO, T. H. *et al.* Calorimetric and light scattering investigations of the transition from spherical to wormlike micelles of C14TAB triggered by salicylate. **Langmuir**, v. 31, n. 22, p. 6020-6026, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b01027>.

JAIN, U. K. *et al.* 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. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1015811807438>.

JORA, M. Z.; SABADINI, E.; RAGHAVAN, S. R. Light-Triggered Rheological Changes in a System of Cationic Wormlike Micelles Formulated with a Photoacid Generator. **Langmuir**, v. 36, n. 45, p. 13408-13414, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01439>.

JOVER, A. *et al.* Revealing the complex self-assembly behaviour of sodium deoxycholate in aqueous solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 604, p. 415-428, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.140>.

KATO, H.; NAKAMURA, A.; SHIMIZU, M. Effect of surfactant micelle size on the dispersibility of aqueous carbon black particle suspensions prepared by

ultrasonication. **Powder Technology**, v. 399, p. 117206, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2022.117206>.

KOC, B. *et al.* Production and characterization of chitosan-fungal extract films. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100545, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100545>.

KONG, J. *et al.* Hydrophobic interaction of four bile salts with hemoglobin induces unfolding of protein and evades protein degeneration induced by urea. **Journal of Molecular Liquids**, v. 375, p. 121395, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121395>.

KUBOTA, N.; EGUCHI, Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. **Polymer journal**, v. 29, n. 2, p. 123-127, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1295/polymj.29.123>.

KUSUMA, H. S.; AL-SA'BANI, A. F.; DARMOKOESOEMO, H. N, O-carboxymethyl chitosan: an innovation in new natural preservative from shrimp shell waste with a nutritional value and health orientation. **Procedia Food Science**, v. 3, p. 35-51, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.004>.

LADEIRA, N. M. B. *et al.* Preparation and characterization of hydrogels obtained from chitosan and carboxymethyl chitosan. **Journal of Polymer Research**, v. 28, n. 9, p. 335, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-021-02682-z>.

LAMEIRO, M. H. *et al.* Encapsulation of adenoviral vectors into chitosan–bile salt microparticles for mucosal vaccination. **Journal of biotechnology**, v. 126, n. 2, p. 152-162, 2006a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.04.030>.

LAMEIRO, M. H. *et al.* Incorporation of a model protein into chitosan–bile salt microparticles. **International journal of pharmaceuticals**, v. 312, n. 1-2, p. 119-130, 2006b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.01.006>.

LE, N. T. T. *et al.* Soy lecithin-derived liposomal delivery systems: Surface modification and current applications. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, p. 4706, 2019.

LE, N. T. T. *et al.* Soy lecithin-derived liposomal delivery systems: Surface modification and current applications. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, p. 4706, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20194706>.

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.

LERTSUTTHIWONG, P. *et al.* Influence of chitosan characteristics on the properties of biopolymeric chitosan–montmorillonite. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 22, n. 5, p. 502-508, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.07.008>.

LI, R. *et al.* Fabrication of carboxymethyl chitosan/oxidized carboxymethyl cellulose composite film and its assessment for coating preservation of strawberry. **Journal of Food Science**, v. 88, n. 5, p. 1865-1878, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16547>.

LIM, JK *et al.* Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. **Nanoscale research letters**, v. 8, p. 1-14, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-381>.

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.

- 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. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi962332f>.
- LUO, M. L. *et al.* Experimental study on the drag reduction performance of clear fracturing fluid using wormlike surfactant micelles and magnetic nanoparticles under a magnetic field. **Nanomaterials**, v. 11, n. 4, p. 885, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11040885>.
- LV, D. *et al.* A pH, thermal and light triple-stimuli responsive micellar solution formed by a cationic surfactant and trans-*o*-hydroxycinnamic acid. **Soft Matter**, v. 17, n. 40, p. 9210-9220, 2021.
- MA, X. *et al.* Nanotechnology in healthcare, and its safety and environmental risks. **Journal of nanobiotechnology**, v. 22, n. 1, p. 715, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02901-x>.
- MACOSKO C. W. **Rheology: Principles, Measurements and Applications**, Wiley-VCH, New York, 1994.
- MADENCI, D. *et al.* Simple model for the growth behaviour of mixed lecithin-bile salt micelles. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 13, n. 8, p. 3171-3178, 2011.
- MADENCI, D.; EGELHAAF, S. U. Self-assembly in aqueous bile salt solutions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, n. 1-2, p. 109-115, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.010>.
- MANGRULKAR, S. V. *et al.* A comprehensive review on pleiotropic effects and therapeutic potential of soy lecithin. **Advances in Traditional Medicine**, p. 1-20, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13596-024-00770-1>.
- MARKINA, A. A. *et al.* Self-assembly of lecithin and bile salt in the presence of inorganic salt in water: mesoscale computer simulation. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 121, n. 33, p. 7878-7888, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b04566>.
- MARTIN, A. N. **Physical Pharmacy: physical chemistry principles in the pharmaceutical science**. 4. ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993.
- MASSA, M.; COMPARI, C.; FISICARO, E. On the mechanism of the cholesterol lowering ability of soluble dietary fibers: Interaction of some bile salts with pectin, alginate, and chitosan studied by isothermal titration calorimetry. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 968847, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.968847>.
- MAZER, N. A.; BENEDEK, G. B.; CAREY, M. C. Quasielastic light-scattering studies of aqueous biliary lipid systems. Mixed micelle formation in bile salt-lecithin solutions. **Biochemistry**, v. 19, n. 4, p. 601-615, 1980.
- MEKKAOU, A. *et al.* Effect of Bile Salts on the Interfacial Dilational Rheology of Lecithin in the Lipid Digestion Process. **J. Oleo Sci.**, v. 70, n. 8, p. 1069-1080, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5650/jos.ess21081>.
- MINATTI, E.; ZANETTE, D. Salt effects on the interaction of poly(ethylene oxide) and sodium dodecyl sulfate measured by conductivity. **Colloids Surf. B**. v. 113, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0927-7757\(96\)03573-X](https://doi.org/10.1016/0927-7757(96)03573-X).

MOHAMED, N. A.; EL-GHANY, N. A. A. Evaluation of in vitro antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of a new carboxymethylchitosan-based cyanoguanidine copolymer. **Cell. Chem. Technol**, v. 58, p. 481-493, 2024.

MONDAL, M. I. H.; AHMED, F. Cellulosic fibres modified by chitosan and synthesized ecofriendly carboxymethyl chitosan from prawn shell waste. **The Journal of The Textile Institute**, v. 111, n. 1, p. 49-59, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00405000.2019.1669321>.

MORAIS, W. A.; PEREIRA, M. R.; FONSECA, J. L. C. Characterization of gelification of chitosan solutions by dynamic light scattering. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 4, p. 2376-2380, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.002>.

MOUAZ, A. B. *et al.* study of the adsorption bile salts onto model lecithin membranes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 20, p. 119-127, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(00\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(00)00185-5).

MUKHERJEE, B. *et al.* Micellization and adsorption behaviour of bile salt systems. **RSC advances**, v. 6, n. 3, p. 1769-1781, 2016.

NAKASHIMA, T. *et al.* Potentiometric study on critical micellization concentrations (CMC) of sodium salts of bile acids and their amino acid derivatives. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 24, n. 2, p. 103-110, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(01\)00222-3](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(01)00222-3).

NASROLLAHZADEH, M. *et al.* An introduction to nanotechnology. In: **Interface science and technology**. Elsevier, 2019. p. 1-27. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813586-0.00001-8>.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.

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. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00874>.

NITSCHKE, J. *et al.* A new method for the quantification of chitin and chitosan in edible mushrooms. **Carbohydrate Research**, v. 346, n. 11, p. 1307-1310, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.03.040>.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química nova**, v. 25, p. 772-776, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000500013>.

O'REAR, E. A. "Review of An Introduction to Surfactants." **Journal of Chemical Education**. v. 92, p. 1779-1780, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00669>.

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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109798>.

OLANIPEKUN, E. O. *et al.* Comparative studies of chitosan and carboxymethyl chitosan doped with nickel and copper: Characterization and antibacterial potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1971-1977, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.162>.

- PADASALA, S. *et al.* Bile salt assisted morphological changes of cationic gemini surfactant (12-4-12) micelles. **RSC advances**, v. 6, n. 99, p. 96584-96594, 2016.
- PALAZZO, G. Wormlike reverse micelles, **Soft Matter**, v. 9, p. 10668-10677, 2013.
- PAREKH, P. Y. *et al.* Self-assembly of bile salts and their mixed aggregates as building blocks for smart aggregates. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 312, p. 102846, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102846>.
- PAUL, R.; BALARAM, P. A fluorescent probe study of the solubilisation of cholesterol by bile salt-phospholipid micelles. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 81, n. 3, p. 850-857, 1978. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(78\)91429-8](https://doi.org/10.1016/0006-291X(78)91429-8).
- 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, n. 4, p. 1299-1305, 1995.
- PELLIS, A.; GUEBITZ, G. M.; NYANHONGO, G. S. Chitosan: sources, processing and modification techniques. **Gels**, v. 8, n. 7, p. 393, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels8070393>.
- PERCEBOM, A. M. *et al.* Phase behavior controlled by the addition of long-chain n-alcohols in systems of cationic surfactant/anionic polyion complex salts and water. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 122, n. 18, p. 4861-4869, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b01788>.
- PIGLIACELLI, C. *et al.* Probing the molecular interactions between pharmaceutical polymeric carriers and bile salts in simulated gastrointestinal fluids using NMR spectroscopy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 551, p. 147-154, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.05.002>.
- POŠA, M. Self-association of the anion of 7-oxodeoxycholic acid (bile salt): how secondary micelles are formed. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 14, p. 11853, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241411853>.
- RESHETNYAK, V. I.; MAEV, I. V. Bile acid therapy for primary biliary cholangitis: Pathogenetic validation. **World Journal of Experimental Medicine**, v. 15, n. 1, p. 101771, 2025. DOI: <https://doi.org/10.5493/wjem.v15.i1.101771>.
- RIVA, R. *et al.* Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. **Chitosan for biomaterials II**, p. 19-44, 2011. DOI: https://doi.org/10.1007/12_2011_137. DOI: https://doi.org/10.1007/12_2011_137.
- ROTARU, R. *et al.* Ferromagnetic iron oxide–cellulose nanocomposites prepared by ultrasonication. **Polymer chemistry**, v. 9, n. 7, p. 860-868, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7PY01587A>.
- ROVNYAK, D. *et al.* Determining sequential micellization steps of bile salts with multi-CMC modeling. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 644, p. 496-508, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2023.03.146>.
- SABADINI, E. **Reologia de sistemas coloidais**. São Paulo: Blucher, 2024.
- SABADINI, E.; FRANCISCO, K. R.; BOUTEILLER, L. Bis-urea-based supramolecular polymer: The first self-assembled drag reducer for hydrocarbon solvents. **Langmuir**, v. 26, n. 3, p. 1482-1486, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/la903683e>.

SARTI, F.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Chitosan and thiolated chitosan. In: **Chitosan for biomaterials I**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 93-110. DOI: https://doi.org/10.1007/12_2011_109.

SCHURTENBERGER, P. *et al.* Structural and dynamic properties of polymer-like reverse micelles. **Journal of Physical Chemistry**, v. 94, n. 9, p. 3695-3701, 1990.

SCHWARZ, M. A. *et al.* 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. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00161-7).

SEINO, H. *et al.* Investigation of partially myristoylated carboxymethyl chitosan, an amphoteric-amphiphilic chitosan derivative, as a new material for cosmetic and dermal application. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 7, p. 2332-2340, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/jocd.13833>.

SELVAMANI, V. Stability Studies on Nanomaterials Used in Drugs. In: MOHAPATRA, S. S. *et al.* (orgs.). **Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery**. Elsevier, 2019. p. 425-444. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814031-4.00015-5>.

SENYIGIT, T. *et al.* Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: In vitro and in vivo evaluation. **Int. J. Pharm.**, v. 403, p. 123-129, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.036>.

SHAKIL, M. S. *et al.* Using chitosan or chitosan derivatives in cancer therapy. **Polysaccharides**, v. 2, n. 4, p. 795-816, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040048>.

SHARIATINIA, Z. Carboxymethyl chitosan: Properties and biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 120, p. 1406-1419, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.131>.

SHI, H. *et al.* Preparation of carboxymethylchitosan based rapid self-healing injectable hydrogels. **Journal of Polymer Research**, v. 30, n. 9, p. 342, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-023-03705-7>.

SINDHU, R. *et al.* Formic acid as a potential pretreatment agent for the conversion of sugarcane bagasse to bioethanol. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 162, n. 8, p. 2313-2323, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9004-2>.

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. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 65, n. 9, p. 4536-4546, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jced.0c00360>.

SIVANESAN, I. *et al.* Green synthesized chitosan/chitosan nanoforms/nanocomposites for drug delivery applications. **Polymers**, v. 13, n. 14, p. 2256, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13142256>.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8 ed. americana. São Paulo: Ed. Thomson, 2007.

SOUZA, R. N. *et al.* Thermal behavior of wormlike micelles under turbulent and quiescent regimes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 603, p. 125271, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125271>.

SUYS, E. J. *et al.* Computational models of the intestinal environment. 3. The impact of cholesterol content and pH on mixed micelle colloids. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 3684-3697, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00446>.

TAGER, A. **Physical chemistry of polymers**. 2.ed. Moscou: Mir Publishers, 1978.

TANGANINI, I. C. *et al.* Bioprocessing of shrimp wastes to obtain chitosan and its antimicrobial potential in the context of ethanolic fermentation against bacterial contamination. 3 Biotech 10: 135. **Recuperado en**, v. 11, 2020.

TANGANINI, I. C. *et al.* Chitin and Chitosan Production from Shrimp Wastes by a Two-Step Process Consisting of Molasses-Based Lactic Fermentation and Chemical Deacetylation: Insights into the Antimicrobial, Microsphere and Film-Forming Properties of Chitosan. **Journal of Polymers and the Environment**, p. 1-20, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10924-024-03365-8>.

TANGSO, K. J. *et al.* Formation of liquid-crystalline structures in the bile salt–chitosan system and triggered release from lamellar phase bile salt–chitosan capsules. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 15, p. 12363-12371, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/am502192t>.

TERRÓN-MEJÍA, K. A. *et al.* Mesoscopic modeling of the encapsulation of capsaicin by lecithin/chitosan liposomal nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 8, n. 6, p. 425, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano8060425>.

THY, L. T. M.; DUY, H. K.; DAT, N. M. Applications of Lecithin in Emulsion Stabilization and Advanced Delivery Systems in Cosmetics: A Mini-Review. **Results in Surfaces and Interfaces**, p. 100543, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rsurfi.2025.100543>.

VILLALBA-RODRÍGUEZ, A. M. *et al.* Nanomaterial constructs for catalytic applications in biomedicine: nanobiocatalysts and nanozymes. **Topics in Catalysis**, v. 66, n. 9, p. 707-722, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11244-022-01766-4>.

VIRMANI, T. *et al.* Amelioration of cancer employing chitosan, its derivatives, and chitosan-based nanoparticles: Recent updates. **Polymers**, v. 15, n. 13, p. 2928, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15132928>.

WAHID, F. *et al.* Injectable self-healing carboxymethyl chitosan-zinc supramolecular hydrogels and their antibacterial activity. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 1233-1239, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.025>.

WALDE, P. *et al.* Phospholipid-based reverse micelles. **Chemistry and physics of lipids**, v. 53, n. 4, p. 265-288, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(90\)90026-N](https://doi.org/10.1016/0009-3084(90)90026-N).

WANG, L. *et al.* Preparation and antioxidant activity of new carboxymethyl chitosan derivatives bearing quinoline groups. **Marine Drugs**, v. 21, n. 12, p. 606, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21120606>.

WANG, M. *et al.* Progress in the application of lecithins in water-in-oil emulsions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 118, p. 388-398, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.019>.

WANG, X. *et al.* Preparation and evaluation of carboxymethyl chitosan-rhein polymeric micelles with synergistic antitumor effect for oral delivery of paclitaxel. **Carbohydrate polymers**, v. 206, p. 121-131, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.096>.

- WARREN, D. B. *et al.* Molecular dynamics simulations of spontaneous bile salt aggregation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 280, n. 1-3, p. 182-193, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.009>.
- WAYS, T. M. M.; LAU, W. M.; KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems. **Polymers**, v. 10, n. 3, p. 267, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym10030267>.
- WEE, W. *et al.* The roles of soybean lecithin in aquafeed: a crucial need and update. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1188659, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1188659>.
- WIEDMANN, T. S.; LIANG, W.; KAMEL, L. Solubilization of drugs by physiological mixtures of bile salts. **Pharmaceutical research**, v. 19, n. 8, p. 1203-1208, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1019858428449>.
- WIJAYA, A. R. *et al.* Addition of chitosan to Calcium-Alginate Membranes for Seawater NaCl Adsorption. **AIMS Environmental Science**, v. 11, n. 1, 2024. DOI: 10.3934/environsci.2024005.
- WU, H.; ZHU, A.; YUAN, L. Interactions between O-carboxymethylchitosan and bovine serum albumin. **Materials Chemistry and Physics**, v. 112, n. 1, p. 41-46, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2008.04.046>.
- XU, S. *et al.* The effect of doxycycline-containing chitosan/carboxymethyl chitosan nanoparticles on NLRP3 inflammasome in periodontal disease. **Carbohydrate polymers**, v. 237, p. 116163, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116163>.
- XUE, J.; ZHONG, Q. Blending lecithin and gelatin improves the formation of thymol nanodispersions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 13, p. 2956-2962, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf405828s>.
- YADAV, S. K.; PARIKH, K.; KUMAR, S. Mixed micelle formation of cationic gemini surfactant with anionic bile salt: a PAH solubilization study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 522, p. 105-112, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.048>.
- YAN, D. *et al.* Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives in the treatment of enteric infections. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7136, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>.
- YU, N. *et al.* Healing effect of carboxymethyl chitosan-plantamajoside hydrogel on burn wound skin. **Burns**, v. 48, n. 4, p. 902-914, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.burns.2022.01.019>.
- YU, R. B.; QUIRINO, J. P. Bile salts in chiral micellar electrokinetic chromatography: 2000–2020. **Molecules**, v. 26, n. 18, p. 5531, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26185531>
- ZHANG, H. *et al.* Conversion of bile salts from inferior emulsifier to efficient smart emulsifier assisted by negatively charged nanoparticles at low concentrations. **Chemical Science**, v. 12, p. 11845-11850, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1SC02596A>.
- ZHAO, F. *et al.* Perspectives on lecithin from egg yolk: Extraction, physicochemical properties, modification, and applications. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 1082671, 2023. DOI: 10.3389/fnut.2022.1082671.

ZHENG, Xue *et al.* Composite films of N, O-carboxymethyl chitosan and bamboo fiber. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 3, 2014.

ZHOU, G. *et al.* Comparison of chitosan microsphere versus O-carboxymethyl chitosan microsphere for drug delivery systems. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 32, n. 5, p. 469-486, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1177/0883911517690757>.

ZHOU, Z. *et al.* 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. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00354>.

ZHU, A.; JIN, W.; YUAN, L.; YANG, G.; YU, H.; WU, H. O-Carboxymethylchitosan-based novel gatifloxacin delivery system. **Carbohydrate polymers**, v. 68, n. 4, p. 693-700, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.007>.

ZIMET, P. *et al.* Physico-chemical and antilisterial properties of nisin-incorporated chitosan/carboxymethyl chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 334-343, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.013>.

ZORATTO, N. *et al.* Supramolecular gels of cholesterolmodified gellan gum with disc-like and worm-like micelles. **Journal of colloid and interface science**, v. 556, p. 301-312, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.08.057>.

ZUGHAIID, H. *et al.* Bile salt composition is secondary to bile salt concentration in determining hydrocortisone and progesterone solubility in intestinal mimetic fluids. **International journal of pharmaceutics**, v. 422, n. 1-2, p. 295-301, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.11.012>.

APÊNDICE A – ANÁLISES REOLÓGICAS DAS SOLUÇÕES ESTOQUE

As soluções estoque dos surfactantes e da CMQ nas mesmas concentrações empregadas nos sistemas também foram caracterizadas por reologia. Essa etapa permitiu estabelecer o comportamento de cada componente, funcionando como referência para a interpretação das respostas mecânicas observadas nos sistemas combinados. A comparação entre as soluções estoque e as formulações mistas torna possível identificar com maior precisão quais alterações reológicas decorrem das interações supramoleculares entre surfactantes e CMQ, e quais são atribuídas às propriedades próprias de cada espécie em solução.

Figura 1A – Curva de fluxo das soluções de (A) surfactantes e (B) polímero nas diferentes concentrações estudadas

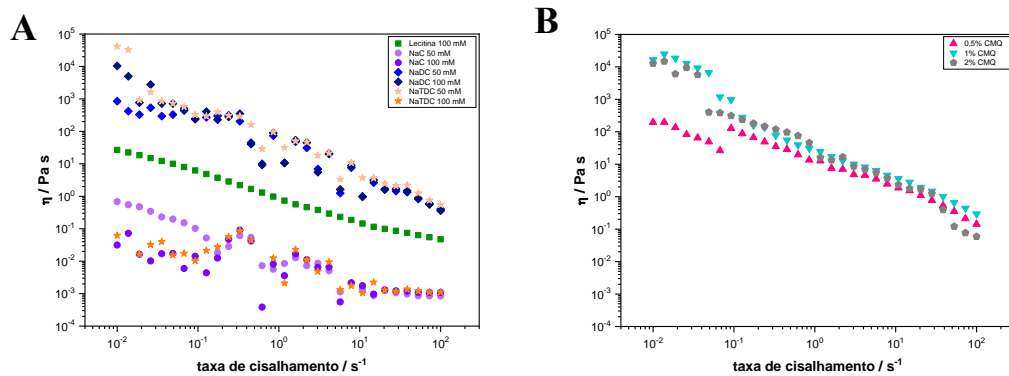


Figura 2A – Ensaio dinâmico das soluções de (A) surfactantes e (B) polímero nas diferentes concentrações estudadas. Os símbolos preenchidos representam o módulo de elasticidade, G' , e os vazados o de viscosidade, G'' .

