

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

**INFLUÊNCIA DA GELATINA E PECTINA NA FORMAÇÃO DE  
AGREGADOS DE LECITINA E SAIS DE BILE**

JÚLIA DA SILVA FORSTER

SOROCABA-SP  
2025

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

**INFLUÊNCIA DA GELATINA E PECTINA NA FORMAÇÃO DE  
AGREGADOS DE LECITINA E SAIS DE BILE**

JÚLIA DA SILVA FORSTER

Defesa de mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciência dos Materiais  
(PPGCM) – Universidade  
Federal de São Carlos, Campus  
Sorocaba – para obtenção do  
título de Mestre em Ciência dos  
Materiais.

Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kelly  
Roberta Francisco Muruci de  
Paula.

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

Forster, Júlia da Silva

Influência da gelatina e pectina na formação de agregados de lecitina e sais de bile. / Júlia da Silva Forster -- 2025.  
100f.

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

1. Sistemas autoagregado;. 2. Liberação controlada;. 3. Surfactantes.. I. Forster, Júlia 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



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
Centro de Ciências e Tecnologias Para a  
Sustentabilidade Programa de Pós-Graduação  
em Ciência dos Materiais

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Júlia da Silva Forster, realizada em 25/02/2025.

**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)

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

**JÚLIA DA SILVA FORSTER**

**INFLUÊNCIA DA GELATINA E PECTINA NA FORMAÇÃO DE  
AGREGADOS DE LECITINA E SAIS DE BILE**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência dos Materiais para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciência dos Materiais.

Sorocaba, 25 de fevereiro de  
2025.

Orientadora

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kelly Roberta Francisco Muruci de Paula  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Examinador

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucimara Lopes da Silva  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

Examinador

---

Prof. Dr. Adriano Lopes de Souza  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Dedico este trabalho a todos que me acompanharam nessa jornada longa e totalmente apaixonante que é o fazer científico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Val e Marcos, que sempre foram minha base. Vocês são meu exemplo de dedicação e resiliência, e tudo o que sou hoje é reflexo do que aprendi com vocês.

Um agradecimento especial à minha irmã, Leticia, que não apenas caminhou ao meu lado durante essa jornada, mas foi minha maior incentivadora. Sua confiança no meu potencial e apoio constante foram essenciais para que eu nunca desistisse.

Agradeço ao meu companheiro de vida, Luiz, que esteve presente em todos os momentos, secando minhas lágrimas, ouvindo meus desabafos e sempre me motivando a seguir em frente.

Aos meus cachorrinhos, Flock e Lucke, que, embora estivessem dormindo, foram meus fiéis companheiros. Vocês aquecem meu coração e tornam as longas madrugadas de estudo mais leves, cheia de amor e lealdade.

Sou grata às minhas amigas, Larissa, Ariel, Júlia, Aline e Tais, que, apesar da distância, continuam a vibrar por cada uma das minhas conquistas.

Agradeço aos técnicos do laboratório de ensino da UFSCar (campus Araras), Yves, Humberto e Léo, pelas valiosas conversas e pela ajuda na caracterização dos materiais.

Agradeço ao financiamento fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Um muito obrigado a todos os integrantes do LabES<sup>2</sup> – Davi, Brenda, Vinicius, Gilberto e Giovana, pelo companheirismo e apoio ao longo dessa jornada.

Por fim, agradeço à minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kelly, que tem sido minha inspiração como cientista e mulher, pelo direcionamento e pela orientação fornecida ao longo destes anos.

A todos vocês, meu mais sincero obrigado!

## RESUMO

Sistemas autoagregados formados por biopolímeros se mostram altamente promissores para a administração de fármacos devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, capacidade de estabilização e possibilidade de controle na liberação, proporcionando tratamentos mais eficazes, seguros e sustentáveis. Neste estudo, foi investigado a formação e caracterização de agregados compostos de lecitina/deoxicolato de sódio (NaDC), com diferentes proporções (200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM) e com pectina e gelatina (1%, 3% e 5%) como biopolímeros moduladores. Os sistemas foram caracterizados por espalhamento dinâmico de luz (DLS), medidas de potencial zeta, análise reológica e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A incorporação do Metronidazol (MDZ) e sua avaliação em células de difusão vertical revelaram que os biopolímeros alteraram significativamente o sistema, aumentando as interações eletrostáticas repulsivas entre as partículas e promovendo a formação de agregados com diâmetros homogêneos e controlados. Os estudos de liberação mostraram que ambos os biopolímeros são eficazes para promover a liberação sustentada do MDZ, a gelatina apresenta um perfil de liberação rápido, enquanto a pectina oferece uma rede mais elástica, com liberação mais lenta e controlada, evidenciando o potencial desses materiais para aplicações farmacêuticas em sistemas de entrega de fármacos.

**Palavras-chave:** Autoagregado, Liberação controlada, Metronidazol, Lecitina, Deoxicolato de sódio.

## ABSTRACT

Self-aggregated systems formed by biopolymers are highly promising for drug delivery due to their biocompatibility, biodegradability, stabilization capacity and possibility of release control, providing more effective, safe and sustainable treatments. In this study, the formation and characterization of aggregates composed of lecithin/sodium deoxycholate (NaDC) with different proportions (200mM/200mM, 200mM/100mM and 100mM/200mM) and with pectin and gelatin (1%, 3% and 5%) as modulating biopolymers were investigated. The systems were characterized by dynamic light scattering (DLS), zeta potential measurements, rheological analysis and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The incorporation of Metronidazole (MDZ) and its evaluation in vertical diffusion cells revealed that the biopolymers significantly altered the system, increasing the repulsive electrostatic interactions between the particles and promoting the formation of aggregates with homogeneous and controlled diameters. Release studies showed that both biopolymers are effective in promoting the sustained release of MDZ, gelatin presenting a fast release profile, while pectin offers a more elastic network, with slower and more controlled release, evidencing the potential of these materials for pharmaceutical applications in drug delivery systems.

**Keywords:** Self-aggregated, Controlled release, Metronidazole, Lecithin, Sodium deoxycholate.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	6
ÍNDICE DE TABELAS .....	8
ÍNDICE DE FIGURAS .....	8
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	8
1 CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Sistemas autoagregados e Surfactantes .....	14
1.1.1 <i>Lecitina</i> .....	15
1.1.2 <i>Sais de Bile: Deoxicolato de Sódio</i> .....	16
1.2 Adição de polímeros em sistemas autoagregados formados por surfactantes.....	17
1.2.1 <i>Pectina</i> .....	18
1.2.2 <i>Gelatina</i> .....	19
1.3 Auto agregação: Formação, Tamanho e Estabilidade .....	20
1.3.1 <i>Reologia</i> .....	21
1.3.2 <i>Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)</i> .....	23
1.3.3 <i>Potencial zeta</i> .....	24
1.4 Sistemas autoagregados para a liberação de fármaco.....	24
1.4.1 <i>Perfil de liberação de fármaco em matrizes poliméricas</i> .....	25
1.4.2 <i>Metronidazol</i> .....	26
1.5 Objetivos.....	27
1.5.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	27
2 CAPÍTULO 2: MATERIAIS E METODOLOGIA .....	28
2.1 Preparo dos sistemas.....	28
2.2 Reologia.....	29
2.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ) .....	30

2.4 Infravermelho com Transformada de Furrier (FTIR).....	30
2.5 Sistemas de liberação de fármaco.....	30
3 CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
3.1 Sistemas sem matriz polimérica .....	32
3.2 Sistemas contendo matriz polimérica.....	36
3.2.1 <i>Influência da pectina na formação de agregados</i> .....	37
3.2.2 <i>Influência da gelatina na formação de agregados</i> .....	49
3.3 Sistemas contendo fármaco MDZ .....	61
3.4 Análises de liberação das drogas nos sistemas.....	70
3.4.1 <i>Análises das cinéticas de liberação</i> .....	71
4 CAPÍTULO 4: CONCLUSÃO.....	72
5 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
APÊNDICE .....	95

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Formação de autoagregados conforme fator de empacotamento (P). .....	20
Tabela 2: Modelos de análises cinéticas de liberação de fármaco. ....	26
Tabela 3: Concentrações dos sistemas com e sem fármaco. ....	29
Tabela 4: Valores de PZ para os sistemas controle de lecitina/NaDc nas concentrações de 200mM/200mM; 200mM/100mM e 100mM/200mM.....	34
Tabela 5: Valores de PZ para sistemas de lecitina/NaDC contendo pectina.....	45
Tabela 6: Valores de PZ para sistemas de lecitina/NaDC contendo gelatina.....	57
Tabela 7: Valores de PZ para sistemas contendo pectina/MDZ e gelatina/MDZ.....	67
Tabela 8: Parâmetros propostos para análise da cinética de liberação.....	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da lecitina.....	15
Figura 2: Estrutura química do Deoxicolato de sódio (NaDC). ....	16
Figura 3: Estrutura química da pectina.....	18
Figura 4: Estrutura química da gelatina.....	19
Figura 5: Esquematização do uso de micelas para encapsulamento de fármacos. ....	25
Figura 6: Estrutura química do Metronidazol. ....	27
Figura 7: Esquema metodológico da obtenção dos sistemas.....	29
Figura 8: Funcionamento das células de difusão vertical de Franz.....	30
Figura 9: Procedimentos para a análise dos perfis de liberação de fármaco. ....	31
Figura 10: Características visuais dos sistemas 200mM/200mM, 200mM/100mM, 100mM/200mM de Lectina/NaDC, recém preparados, após 24h, 48h e 72h. ....	33
Figura 11: Curva de correlação dos sistemas controle de lecitina/NaDC nas concentrações de 200mM/200mM, 200mM/100mM, 100mM/200mM. ....	34
Figura 12: Ensaios reológicos a) Curva de fluxo e b) varredura de frequências do controle de lecitina/NaDC (■) 200mM/200mM (●)200mM/100mM e (▲) 100mM/200mM. ...	36
Figura 13: Características visuais dos sistemas de controles de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	37
Figura 14: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lectina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	38
Figura 15: Características visuais dos sistemas de 200mM/100mM Lectina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	39
Figura 16: Características visuais dos sistemas de 100mM/200mM lectina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	40
Figura 17: Espectro da a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo pectina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%. ....	42
Figura 18: Curva de correlação a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo pectina (-) 1%; (-) 3% e (-) 5%.....	43
Figura 19: Ensaios reológicos Curva de fluxo a) controle de pectina, b) 200mM/200mM, c) 200mM/100mM e d)100mM/200mM de pectina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.....	47
Figura 20: Ensaios reológicos varredura de frequências a) controle de pectina, b) 200mM/200mM, c) 200mM/100mM e d)100mM/200mM de pectina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%. ....	48

Figura 21: Características visuais dos sistemas de controle de gelatina (1%,3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	49
Figura 22: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lectina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	50
Figura 23: Características visuais dos sistemas de 200mM/100mM lectina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	51
Figura 24: Características visuais dos sistemas de 100mM/200mM lectina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	53
Figura 25: Espectro de <i>a)</i> sistema 200mM/200mM, <i>b)</i> 200mM/100mM e <i>c)</i> 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%. .....	54
Figura 26: Curva de correlação <i>a)</i> sistema 200mM/200mM, <i>b)</i> 200mM/100mM e <i>c)</i> 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%. .....	55
Figura 27: Ensaio reológico Curva de fluxo <i>a)</i> controle de gelatina, <i>b)</i> 200mM/200mM, <i>c)</i> 200mM/100mM e <i>d)</i> 100mM/200mM de gelatina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.....	58
Figura 28: Ensaio reológico varredura de frequências <i>a)</i> controle de gelatina, <i>b)</i> 200mM/200mM, <i>c)</i> 200mM/100mM e <i>d)</i> 100mM/200mM de gelatina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%. .....	60
Figura 29: Espectro de <i>a)</i> 100mM/200mM contendo pectina/MDZ (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%; e <i>b)</i> gelatina/MDZ (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%. .....	62
Figura 30: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lectina/NaDC de pectina/MDZ (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	63
Figura 31: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lectina/NaDC de gelatina/MDZ (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.....	64
Figura 32: Curva de correlação dos sistemas 100mM/200mM de <i>a)</i> pectina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5% e <i>b)</i> gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%. .....	66
Figura 33: Ensaio reológico de Curva de fluxo de <i>a)</i> pectina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%; e <i>b)</i> gelatina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.....	67
Figura 34: Ensaio reológico de varredura dinâmica de frequência de <i>a)</i> pectina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%; e <i>b)</i> gelatina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.....	69
Figura 35: Curva de liberação do fármaco. ....	70

## SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

**CMC:** Concentração Micelar Crítica

**DLS:** Espalhamento Dinâmico de Luz

**NaDC:** Deoxicolato de sódio

**PZ:** Potencial Zeta

**MDZ:** Metronidazol

**FTIR:** Infravermelho com Transformada de Furrier

$\alpha$ : alfa

$\beta$ : beta

**B:** Constante de base

$^{\circ}\text{C}$ : Graus Celsius

$\tau$ : Tensão

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

$\eta_0$ : Viscosidade de repouso

$\eta_{ap}$ : Viscosidade aparente

**mM:** Concentração Milimolar ( $\text{mmol. L}^{-1}$ )

**g:** Grama

$G'$ : Módulo de armazenamento

$G''$ : Módulo de perda

**Hz:** Hertz

**keV:** Quilo elétron-volt

**$K_B$ :** Constante de Boltzmann

**ml:** Mililitro

**mm:** Milímetro

**nm:** Nanômetro

**Pa:** Pascal

**Pa.s:** Pascal por segundo

**Rpm:** Rotação por minuto

$\lambda$ : Comprimento de onda

# 1 CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

## 1.1 Sistemas autoagregados e Surfactantes

Os sistemas autoagregados são um conjunto de pequenas moléculas que se organizam de maneira espontânea e reversível em estruturas ordenadas, sem necessidade de intervenção externa (Goodwin, 2004; Wu *et al.*, 2019). Essa formação é determinada por meio de interações específicas entre as moléculas anfifílicas (surfactantes). Os surfactantes atuam reduzindo a tensão superficial em interfaces como líquido-líquido, líquido-sólido e líquido-gás e sólido-gás (Sharma *et al.*, 2019; Moroi, 1992; Rabóczkay, 2016; Holmberg *et al.*, 2002).

A estruturação dessas moléculas é caracterizada por duas regiões diferentes, sendo uma região polar, com características hidrofílicas, comumente chamada por "cabeça" e uma "cauda" hidrofóbica (Rabóczkay, 2016; Holmberg *et al.*, 2002), possibilitando a interação com substâncias polares e apolares (Qiu *et al.*, 2015).

Em baixas concentrações de surfactante, as moléculas presentes em solução tendem a ocupar a interface, diminuindo consequentemente a energia livre do sistema e a tensão superficial. Com o aumento da concentração e com a interface ocupada pelas moléculas de surfactantes, um incremento na quantidade das moléculas faz com que as mesmas se agreguem espontaneamente na fase (Turchi, *et al.*, 2022). Essa concentração mínima onde ocorre a agregação das moléculas do surfactante no seio da fase é conhecida como Concentração Micelar Crítica (CMC), na qual micelas esféricas são formadas (Alam *et al.*, 2010; Turchi, *et al.*, 2022).

A maioria dos surfactantes utilizados atualmente são obtido por compostos derivados do petróleo, o que destaca a necessidade de substituir esses compostos por alternativas mais sustentáveis. Os biossurfactantes surgem como uma solução promissora, pois são produzidos por processos biotecnológicos, utilizando recursos renováveis e apresentam a vantagem adicional de serem biodegradáveis (Banat *et al.*, 2000; Banat *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021).

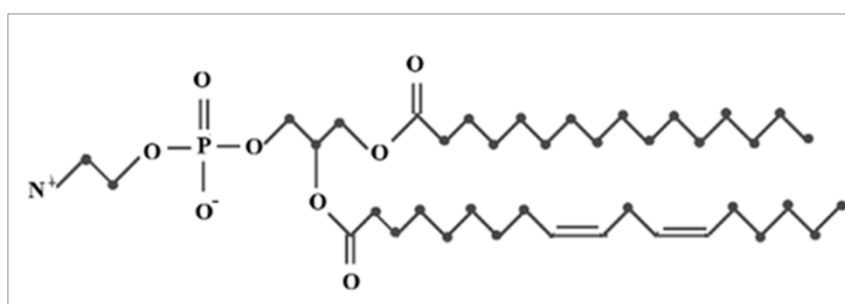
O sal biliar e a lecitina utilizados neste estudo são biossurfactantes que são empregados na área farmacêutica e alimentícia (Elnaggar, 2015; Pahomi *et al.*, 2012; Alhajj *et al.*, 2020). Na área farmacêutica a lecitina é empregada na formulação de medicamentos para melhorar a solubilidade, a biodisponibilidade de compostos hidrofóbicos e na produção de lipossomas para a entrega controlada de drogas

(Sznitowska, 2005; Alhajj *et al.*, 2020). Já os sais biliares são utilizados para melhorar a absorção de certos medicamentos lipofílicos (Pavlović *et al.*, 2018; Elnaggar, 2015).

### 1.1.1 Lecitina

A lecitina é um biossurfactante formado por fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol e ácidos graxos (Zárate *et al.*, 2019; Zeisel, 2012). A fosfatidilcolina possui uma cabeça polar composta por um grupo fosfato ligado a uma colina e duas caudas apolares de ácidos graxos, que estão ligadas a uma molécula de glicerol. A estrutura química da molécula (fig. 1) permite que os fosfolipídios se organizem em bicamadas lipídicas, minimizando a energia livre do sistema (Nasab *et al.*, 2019; Robert *et al.*, 2020).

Figura 1: Estrutura química da lecitina.



Fonte: Adaptado Hashizaki *et al.*, 2012.

A lecitina pode ser obtida a partir da soja, sementes de girassol, canola e da gema de ovo (Bot *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2022). Independente da fonte, a lecitina extraída pode ser submetida a processos como fracionamento, desodorização e modificação enzimática para ajustar suas propriedades físico-químicas e melhorar sua funcionalidade (Robert *et al.*, 2020).

A lecitina, por ser um biossurfactante zwitteriônico, forma agregados em baixas concentrações devido ao menor valor de CMC. Sua autoagregação ocorre por interações não covalentes, como ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas (Zárate *et al.*, 2019). Em soluções aquosas, a lecitina se organiza em diferentes estruturas, como micelas, lipossomas, lamelas e fases hexagonais (Li *et al.*, 2015). Em solventes orgânicos ou óleos, tende a formar micelas reversas, cilíndricas ou esféricas (Hashizaki *et al.*, 2012). Essas propriedades tornam a lecitina estratégica para a liberação controlada de fármacos, permitindo encapsular substâncias, prolongar sua liberação, melhorar a

biodisponibilidade e reduzir a toxicidade (Elnaggar *et al.*, 2014; Vater *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2009). Um exemplo é o uso de lipossomas formados pela autoagregação da lecitina para liberar antitumorais (Chan *et al.*, 2009) e metronidazol (Singh *et al.*, 2015).

### 1.1.2 Sais de Bile: Deoxicolato de Sódio

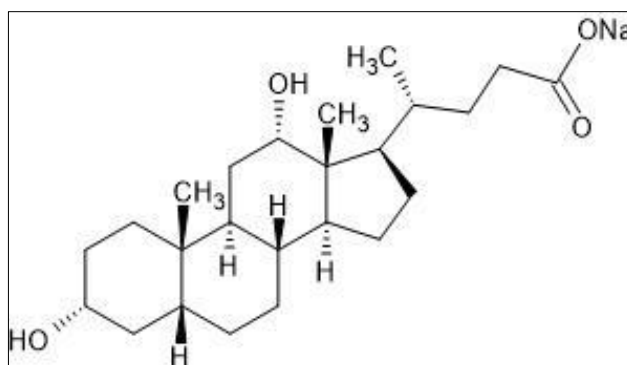
Os sais de bile são compostos derivados do colesterol, que são produzidos no fígado, armazenados na vesícula biliar e secretados no intestino delgado. Sua estrutura é composta por uma parte esteroideal hidrofóbica e uma parte lateral com grupos funcionais hidrofílicos, como hidroxila e carboxila, que permitem sua interação com receptores e a separação enantiomérica de peptídeos, aminoácidos e fármacos (Hu *et al.*, 2022).

A polaridade planar dos sais permite a formação de agregados específicos, criando estruturas rígidas, que a partir das interações eletrostáticas podem ser modificadas por meio de fatores como o pH e a força iônica (Suys *et al.*, 2017; Madenci e Egelhaaf, 2010; Dey *et al.*, 2023). Esses agregados formados, são influenciados pela concentração e composição química dos sais, que geralmente são menores e com valores de CMC mais baixos do que os demais surfactantes (Warren *et al.*, 2006; Na *et al.*, 2022).

Os tipos mais comuns de ácidos biliares presentes no organismo humano são os ácidos cólicos, deoxicólicos e quenodeoxicólicos, conhecidos como sais colatos, deoxicolatos e quenodeoxicolatos, respectivamente (Singh e Chauhan, 2020b; Pabois *et al.*, 2019).

O deoxicolato de sódio (NaDC) (fig. 2), sal derivado do ácido deoxicólico, tem várias aplicações farmacêuticas, especialmente na formulação de medicamentos, aumentando a solubilidade de fármacos lipofílicos e melhorando a biodisponibilidade oral (Aleksandar *et al.*, 2021). Em sistemas de liberação controlada, o NaDC pode ser utilizado para criar micro- e nanopartículas que encapsulam os fármacos, para liberação de forma controlada no organismo e também utilizado em formulações injetáveis garantindo a estabilidade e a solubilidade dos fármacos no plasma sanguíneo (Gândola *et al.*, 2020).

Figura 2: Estrutura química do Deoxicolato de sódio (NaDC).



Fonte: Adaptado Singh e Chauhan, 2020<sup>a</sup>.

Além das aplicações farmacêuticas, os sais de bile também são empregados em diversas outras áreas industriais. Na indústria cosmética, são usados em emulsões para estabilizar formulações e melhorar a absorção de ingredientes ativos (Fornasier *et al.*, 2021; Klimek *et al.*, 2024) Na indústria alimentícia, atuam como emulsificantes sendo empregados em produtos que requerem a estabilização de gorduras (Campos, 2013; Satpute *et al.*, 2018; Sharma *et al.*, 2023). Outra aplicação, é a utilização como biorremediadores, para degradar hidrocarbonetos e outros poluentes orgânicos em ambientes aquáticos, ajudando no tratamento de águas contaminadas (Prakash *et al.*, 2021; Sajadi Bami *et al.*, 2022).

## 1.2 Adição de polímeros em sistemas autoagregados formados por surfactantes

A interação entre polímeros e surfactantes em soluções aquosas pode influenciar significativamente a morfologia, o processo de autoagregação e as propriedades dos agregados formados. Essas interações são resultado das forças hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações de hidrogênio, resultando em alterações na CMC, na morfologia dos agregados e nas propriedades termodinâmicas e macroscópicas do sistema, como energia livre de Gibbs, entropia, viscosidade e comportamento de fase (Zhang *et al.*, 2014; Korevaar *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2021).

A adição de polímeros pode diminuir o tamanho das micelas, transformar micelas semelhantes em agregados globulares menores e criar redes físicas interconectadas que controlam a viscosidade da solução (Gradzielski, 2023). Pequenas mudanças na estrutura química, como o comprimento da cauda do surfactante ou a carga elétrica dos componentes, podem modificar drasticamente a morfologia e a estabilidade dos agregados (Trabelsi *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2021). Além disso, as forças de interações

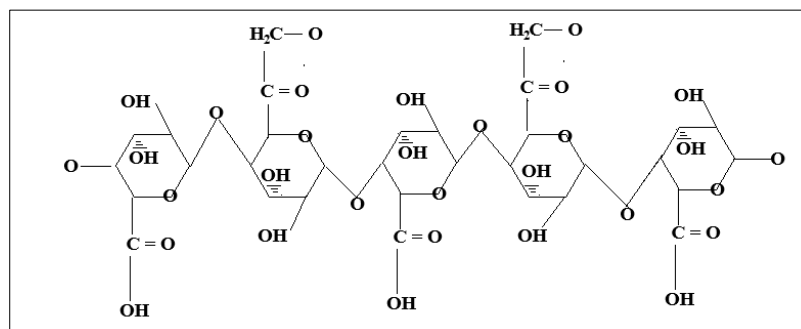
polímero-micela podem influenciar as propriedades reológicas do sistema, sendo importante na obtenção de formulações e materiais funcionais (Gradzielski, 2023).

### 1.2.1 Pectina

A pectina, definida por Braconnot em 1824, é um polissacarídeo ramificado, encontrada nas paredes celular das plantas e juntamente com a celulose e hemicelulose, desempenha um papel crucial na adesão celular e na resistência mecânica (Braverman e Berk, 1976; Canteri *et al.*, 2012; Munhoz *et al.*, 2010). As ligações entre as cadeias de pectina e outros componentes da parede celular formam uma rede complexa que confere rigidez e suporte estrutural às células vegetais (Moreira *et al.*, 2009; Munhoz *et al.*, 2010).

A pectina é composta principalmente por ácido 1,4  $\beta$ -D-galacturônico (fig.3), com cadeias laterais de arabinose, ramnose e galactose que se conectam por ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) e são parcialmente metiladas, o que influencia suas propriedades gelificantes (Voragen *et al.*, 2009; Canteri *et al.*, 2012; Waschek *et al.*, 2009).

Figura 3: Estrutura química da pectina.



Fonte: Adaptado Menezes *et al.*, 2015.

A extração da pectina envolve processos químicos e enzimáticos, que passam por etapas como a hidrólise e solubilização das macromoléculas presentes nos tecidos vegetais, as quais podem ser influenciadas por fatores como o pH, temperatura e o tempo de extração (Munhoz *et al.*, 2010; Pagán *et al.*, 2001). As fontes mais comuns para obter pectina são as partes brancas das cascas de frutas cítricas e o bagaço de maçã. No entanto, a pectina extraída de diferentes fontes possui características variadas, como o grau de esterificação, o tamanho das partículas, o conteúdo de açúcares e o teor de cinzas (Munhoz *et al.*, 2010).

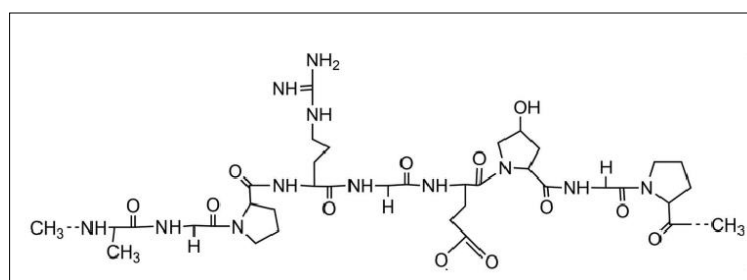
A aplicação da pectina envolve, principalmente, a formação de géis e de hidrocoloides em dispersão e estabilização. Para as indústrias farmacêuticas, essas propriedades apresentam eficácia na área cinética, de hidratação em aplicações orais ou tópicas, em sistemas de liberação controlada de fármacos e revestimento de microcápsulas, devido as suas características eletrostáticas e a capacidade de formar géis em condições e pH específicos (Villanova *et al.*, 2010; Menezes *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2021).

### 1.2.2 Gelatina

A gelatina é uma proteína de origem animal obtida pela hidrólise parcial ácida ou básica do colágeno presente em ossos e tecidos conectivos (Liu *et al.*, 2019). Esse biopolímero é produzido através da desnaturação térmica ou da degradação física e química do colágeno (Mehrali *et al.*, 2019; Wen e Dong, 2016).

Composta principalmente por prolina, hidroxiprolina e glicina, a gelatina possui uma cadeia polimérica linear (fig. 4), altamente hidrofílica, capaz de formar géis termoreversíveis que se solidificam ao resfriar, categorizando-a assim como agente gelificante, estabilizante e texturizante na indústria alimentícia e farmacêutica (Mehrali *et al.*, 2019).

Figura 4: Estrutura química da gelatina



Fonte: Adaptado Li *et al.*, 2015.

Na indústria farmacêutica, a gelatina pode ser utilizada para criar matrizes tridimensionais que mimetizam a matriz extracelular natural, facilitando a proliferação e diferenciação celular em culturas de tecidos (Vaziri *et al.*, 2018). Seu uso no processo de autoagregação para a liberação de fármacos tem sido bastante estudado (Misra *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2006), uma vez que quando utilizada como matriz ou componente de sistemas de liberação, a gelatina pode controlar a taxa de liberação do fármaco, formando

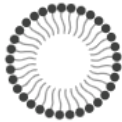
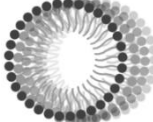

redes tridimensionais projetadas para liberar a molécula de forma sustentada ao longo do tempo (Misra *et al.*, 2016; Lefebvre e Antonov, 2001). A taxa de liberação pode ser ajustada modificando a concentração de gelatina e o grau de reticulação de suas cadeias, o que pode melhorar a estabilidade dos fármacos (Panouillé *et al.*, 2005; Lefebvre e Antonov, 2001).

### 1.3 Auto agregação: Formação, Tamanho e Estabilidade

A formação de sistemas autoagregados possui grande dependência com a geometria molecular do surfactante, dos eletrólitos, pH, temperatura e do solvente. O fator de empacotamento (P) é um parâmetro importante para prever o tipo de agregado formado e considera a relação entre o volume da parte hidrofóbica ( $V_T$ ), com a área polar ( $A_H$ ) multiplicada pelo comprimento da cauda ( $l_T$ ) (equação (1)) (Israelachvili *et al.*, 1976; Singh e Chauhan, 2020<sup>a</sup>). Os valores resultantes permitem classificar os tipos de estruturas formadas, como exemplificado na tabela 1.

$$P = \frac{V_T}{A_H l_T} \quad (\text{Equação 1})$$

Tabela 1: Formação de autoagregados conforme fator de empacotamento (P).

Fator de empacotamento	Estrutura formada
$P < 1/3$	 Micela esférica
$1/3 < P < 1/2$	 Micela cilíndrica
$P > 1$	 Micela reversa

Fonte: Adaptado Oseliero, 2013.

As estruturas formadas podem ser caracterizadas com base em seu tamanho, forma, estabilidade coloidal e pelas propriedades de viscosidade/viscoelasticidade dos sistemas.

### 1.3.1 Reologia

Reologia é a ciência que estuda a deformação e escoamentos de fluidos a partir de uma tensão aplicada. O processo de deformação pode ser dividido em deformações reversíveis e espontâneas, ocorrentes pela elasticidade ou deformações irreversíveis definidas pelo fluxo ou escoamento (Blair, 1969; Toneli *et al.*, 2005).

Neste caso, os materiais podem ser considerados ideais quando classificados como sólidos elásticos e líquido viscoso (Bird *et al.*, 1983; Rao, 2005). Os sólidos elásticos conseguem retornar às dimensões originais após uma deformação dentro de um limite de tensão, enquanto os líquidos viscosos não possuem forma definida e apresenta um escoamento irreversível (Toneli *et al.*, 2005; Rao, 1986; Diaz *et al.*, 2004). Essas classificações são leis limites, na qual, a maioria dos materiais não se enquadram, pois apresentam ambas as propriedades elásticas e viscosas, sendo assim considerados como materiais viscoelásticos (Macosko, 1994; Tsugawa *et al.*, 2019).

#### 1.3.1.1 Reologia dos fluidos

A reologia dos fluidos é caracterizada pela deformação do material em uma determinada taxa. Isso pode ser entendido a partir de duas placas paralelas separadas, com um fluido entre elas, se uma das placas é fixa e a outra se move em uma velocidade constante, isso é capaz de gerar um gradiente de velocidade no fluido, que é diretamente relacionado à taxa de deformação (Bingham, 1922; Bird *et al.*, 1983; Gray e Bonnecaze, 1998).

Nos fluidos ideais ou Newtonianos, a tensão de cisalhamento ( $\sigma$ ) é diretamente proporcional a taxa de deformação ( $\dot{\gamma}$ ), resultando em uma relação linear (Bagnold, 1954; Bird *et al.*, 1983; Toneli *et al.*, 2005). A resistência apresentada no processo de escoamento do fluido é chamada de viscosidade newtoniana ( $\mu$ ) e pode ser relacionada pela equação (2).

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dy} \quad \sigma = \mu \frac{dv}{dy} = \mu \dot{\gamma} \quad (\text{Equação 2})$$

Para os fluidos que não podem ser classificados como newtoniano, o coeficiente de viscosidade é substituído pelo termo de viscosidade aparente ( $\eta$ ), que depende da taxa de deformação  $\dot{\gamma}$  ( $s^{-1}$ ). Esses fluidos são classificados de acordo com seu comportamento reológico, sendo dependentes ou não do tempo (Cates e Candau, 1990).

$$\sigma = \eta(\dot{\gamma})\dot{\gamma} \quad (\text{Equação 3})$$

As medidas reológicas, em fluidos não-newtonianos expressam dois fenômenos importantes em decorrência da relação dependente da taxa de cisalhamento. Para valores de viscosidade aparente que diminuem com o aumento da taxa de cisalhamento, os fluidos são denominados pseudoplásticos ou “*shear thinning*”. Para o aumento da viscosidade juntamente com a taxa de cisalhamento, os fluidos são denominados como dilatantes ou “*shear thickening*” (Bagnold, 1954; Barnes *et al.*, 1993; Macosko, 1994; Goodwin e Hughes, 2000).

O modelo de Maxwell foi o primeiro a caracterizar fluidos viscoelásticos, que combinam elementos elásticos e viscosos, propondo a análise dos fluidos análogos a uma mola e um amortecedor em série (Macosko, 1994). No sistema mecânico, a parte elástica (mola) se deforma instantaneamente quando uma força é aplicada e retorna ao estado original e a parte viscosa (amortecedor) sofre deformação contínua e não retorna ao estado original (Barnes *et al.*, 1993; Macosko, 1994; Semblat, 1997). Assim, os parâmetros reológicos para este modelo são determinados pelo módulo de armazenamento ou elasticidade do fluido ( $G'$ ) e pelo módulo de perda ou viscosidade ( $G''$ ) (equação (4) e (5)).

$$G' = \frac{G_0 \omega^2 \tau_R^2}{1 + \omega^2 \tau_R^2} \quad (\text{Equação 4})$$

$$G'' = \frac{G_0 \omega \tau_R}{1 + \omega^2 \tau_R^2} \quad (\text{Equação 5})$$

O módulo no platô ( $G_0$ ) quantifica a rigidez do material em equilíbrio e está relacionado ao número de entrelaçamentos moleculares a uma temperatura específica (Toneli *et al.*, 2005). O tempo de relaxação ( $\tau_R$ ) indica quanto tempo o material leva para retornar ao equilíbrio após ser deformado. Esses parâmetros são determinados a partir dos valores de  $G'$  e  $G''$  em uma frequência específica ( $\omega_c$  - *Crossover Frequency*), onde os módulos se apresentam iguais e,  $\omega_c$  passa a ser inversamente proporcional ao tempo de relaxação como visto nas equações (6) e (7) (Barnes *et al.*, 1993; Francisco *et al.*, 2010, Francisco *et al.*, 2012).

$$G'(\omega_c) = G''(\omega_c) = \frac{G_0}{2} \quad (\text{Equação 6})$$

$$\omega_c = \frac{1}{\tau_R} \quad (\text{Equação 7})$$

A análise reológica dos sistemas, juntamente com as análises de DLS e potencial zeta, é importante para determinar os tipos de agregados formados para serem utilizados como plataformas de encapsulamento do MDZ .

### 1.3.2 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

A técnica de espalhamento dinâmico de luz (“Dynamic Light Scattering”), é utilizada para medir o tamanho de partículas e a distribuição de tamanho em suspensões ou soluções, a partir do movimento Browniano (Bhattacharjee, 2016). A técnica consiste na incidência de um feixe de luz monocromática (geralmente laser) sobre a amostra onde as partículas em movimento espalham a luz incidida em várias direções e ângulos ( $\theta$ ) (Stetefeld *et al.*, 2016; Postnov *et al.*, 2020).

O vetor de espalhamento ( $q$ ) que pode ser determinado pela equação (8), depende do tamanho, forma e índice de refração ( $\eta$ ) das partículas, as quais estão em constante movimento aleatório, devido à colisão com moléculas do solvente. A velocidade desse movimento é inversamente proporcional ao tamanho das partículas, ou seja, partículas menores se movem mais rápido que partículas maiores (Stetefeld *et al.*, 2016; Postnov *et al.*, 2020).

$$q = \frac{4\pi\eta}{\lambda} \text{sen} \frac{\theta}{2} \quad (\text{Equação 8})$$

Os resultados obtidos por DLS incluem flutuações na intensidade da luz espalhada ao longo do tempo, que estão diretamente relacionadas ao coeficiente de difusão (Anzini *et al.*, 2022). O coeficiente de difusão ( $D_T$ ) está relacionado com o tamanho hidrodinâmico ( $R_h$ ) das partículas e pode ser determinado pela análise da função de correlação, que é como a intensidade da luz espalhada em um momento específico se correlaciona com a intensidade em um momento posterior e pode ser obtido através da equação (9) de Stokes-Einstein (Hassan *et al.*, 2015).

$$D_T = \frac{K_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (\text{Equação 9})$$

Além disso, o DLS analisa a função da autocorrelação  $g_2(\tau)$  que descreve como a intensidade da luz espalhada em um instante se correlaciona com a intensidade em um instante posterior ( $\tau$ , o tempo de atraso). A relação entre  $g_2(\tau)$  e a função de correlação de campo elétrico  $g_1(\tau)$  é expressa na equação (10) (Chandran, 2020; Kato, 2021).

$$g_2(\tau) = 1 + B|g_1(\tau)|^2 \quad (\text{Equação 10})$$

Para partículas monodispersas, a função de correlação de campo elétrico  $g_1(\tau)$  decai exponencialmente e pode ser descrita como:

$$g_1(\tau) = e^{-Dq^2\tau} \quad (\text{Equação 11})$$

O vetor de espalhamento ( $q$ ) neste caso depende tanto do ângulo de detecção ( $\theta$ ) quanto do comprimento de onda da luz utilizada e por meio do ajuste da curva de

correlação obtida experimentalmente, é possível determinar o coeficiente de difusão ( $D$ ) das partículas (Chandran, 2020; Kato, 2021).

No geral a técnica apresenta várias vantagens como ser de rápida análise, não destrutiva e requer pequenas quantidades de amostra. No entanto, também possui algumas limitações, sendo sensível a impurezas e de difícil interpretação em amostras altamente polidispersas ou complexas (Nigro *et al.*, 2021).

### 1.3.3 Potencial zeta

A técnica de potencial zeta é um método utilizado para medir a carga elétrica na superfície de partículas em suspensão em um líquido (Předota *et al.*, 2016; Smith *et al.*, 2017; Hou *et al.*, 2019). Quando uma partícula está em um meio líquido, ela adquire uma carga elétrica na sua superfície devido à ionização de grupos funcionais ou adsorção de íons do meio e essa carga cria uma camada dupla elétrica ao redor da partícula. Essa camada é composta pela camada de Stern, onde os íons estão fortemente ligados à superfície da partícula e pela camada de difusão, onde os íons estão mais livremente associados e podem se mover sob a influência de campos elétricos (Predota *et al.*, 2016; Smith *et al.*, 2017; Hou *et al.*, 2019).

Para medir o potencial zeta de uma amostra, um campo elétrico é aplicado à suspensão e a velocidade de migração das partículas ( $v$ ) é medida e transformada em mobilidade eletrosmótica ( $\mu$ ), levando em consideração a intensidade do campo elétrico ( $E$ ), como expresso na equação (12) (Clogston e Patri, 2011; Bhattacharjee, 2016).

$$\mu = \frac{v}{E} \quad (\text{Equação 12})$$

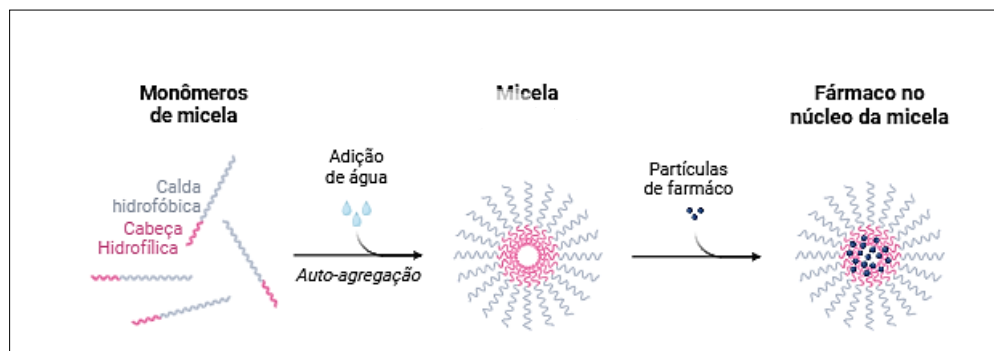
Partículas com alto potencial zeta (positivo ou negativo) tendem a se repelir mutuamente, impedindo a agregação e representando uma estabilidade na suspensão. Por outro lado, se o potencial zeta for baixo, as forças de repulsão são insuficientes para superar as forças de atração, levando à agregação e eventual sedimentação das partículas (Clogston e Patri, 2011).

## 1.4 Sistemas autoagregados para a liberação de fármaco

Os sistemas agregados têm sido foco de pesquisas para aplicações farmacêuticas, principalmente para formulação e liberação de fármacos. Esses sistemas formam estruturas estáveis como micelas, hidrogéis e lipossomas que podem melhorar a biodisponibilidade, estabilidade e especificidade de fármacos, ao mesmo tempo em que

minimizam efeitos colaterais (Liu *et al.*, 2023; Salawi, 2022; Osorno *et al.*, 2021). Uma das principais vantagens dos sistemas autoagregados é a sua capacidade de manter concentrações de fármacos dentro dos níveis terapêuticos por períodos prolongados, evitando as flutuações que são comuns nos métodos tradicionais de dosagem (Laviña *et al.*, 2004). Eles podem ser adaptados para responder a fatores do meio, como o pH e temperatura, permitindo uma liberação mais precisa e sustentada dos medicamentos. Em geral, as micelas encapsulam os medicamentos em seus núcleos, aumentando solubilidade e biodisponibilidade do fármaco, como mostrado na Figura 5 (Liu *et al.*, 2023; Salawi, 2022; Sarode *et al.*, 2020).

Figura 5: Esquemática do uso de micelas para encapsulamento de fármacos.



Fonte: Autoria própria.

O desenvolvimento de sistemas agregados para a liberação de fármacos oferece abordagens promissoras para o tratamento de uma variedade de doenças, como é o caso da liberação de MDZ através de sistemas autoagregados utilizando surfactantes e biopolímeros descritos neste trabalho.

#### 1.4.1 Perfil de liberação de fármaco em matrizes poliméricas

A liberação de fármacos a partir de sistemas autoagregados envolve mecanismos complexos que dependem das propriedades do fármaco e do surfactante/polímero e é controlado por três mecanismos principais: difusão, entumescimento e erosão. A difusão ocorre quando as moléculas do fármaco migram de uma área de maior concentração, dentro do agregado, para o meio externo. O entumescimento, é característico de agregados hidrofílicos, como hidrogéis, que absorvem água e aumentam de volume, criando canais que facilitam a liberação do fármaco. Já a erosão envolve a degradação química ou física

dos agregados, que libera o fármaco gradualmente ao longo do tempo (Kaunisto *et al.*, 2011; Salome *et al.*, 2013; Kanjickal e Lopina, 2004).

Para descrever os mecanismos de liberação de fármacos, diversos modelos matemáticos têm sido amplamente aplicados, permitindo prever taxas de liberação. Os principais modelos podem ser descritos na tabela 2.

Tabela 2: Modelos de análises cinéticas de liberação de fármaco.

<b>Modelo</b>	<b>Equação</b>	<b>Princípio</b>
<b>Ordem zero</b>	$Q = Q_0 + k_0 \cdot t$	Liberação constante ao longo do tempo, independente da concentração.
<b>Primeira Ordem</b>	$\frac{dQ}{dt} = -k_1 \cdot Q$	Liberação proporcional à quantidade de fármaco
<b>Higuchi</b>	$Q = k_H \cdot \sqrt{t}$	Liberação baseada na raiz quadrada do tempo, refletindo processos difusivos em matrizes porosas.
<b>Korsmeyer-Peppas</b>	$Q_t = k_{H-P} \cdot t^n$	Liberação associada à relaxamento da matriz.

Fonte: Autoria própria (Salome *et al.*, 2013; Kanjickal e Lopina, 2004).

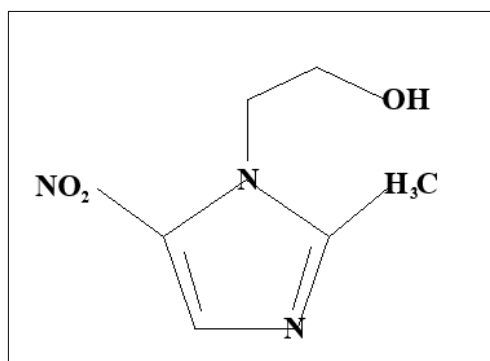
Os fatores que afetam a liberação do medicamento incluem a permeabilidade do agregado, solubilidade do medicamento e tamanho molecular (Salome *et al.*, 2013). Compreender essas relações é essencial para a criação de sistemas eficazes de administração de medicamentos adaptados a aplicações específicas (Salome *et al.*, 2013; Kanjickal e Lopina, 2004).

#### 1.4.2 Metronidazol

O MDZ foi desenvolvido durante a década de 1950 como parte da busca por novos agentes antiprotozoários e possui atuação em tratamentos de infecções por bactérias anaeróbias, por protozoários, incluindo giardíase, amebíase e tricomoníase e vaginose bacteriana (Kalaiarasi *et al.*, 2019; Pérez-Trallero e Iglesias, 2010).

Quimicamente, o MDZ é um derivado do nitroimidazol, com a fórmula molecular  $C_6H_9N_3O_3$  e estrutura composta por um anel imidazol ligado a um grupo nitro e a um grupo etil (fig. 6). A presença do grupo nitro é crucial para a atividade antimicrobiana, pois é esse grupo que, ao ser reduzido nas células alvo, formam compostos que causam danos ao DNA das células microbianas ou protozoárias (Kalaiarasi *et al.*, 2019; Pérez-Trallero e Iglesias 2010; Ferreira *et al.*, 2024).

Figura 6: Estrutura química do Metronidazol.



Fonte: Adaptado Diós, 2016.

Essa estruturação permite sua incorporação em sistemas de autoagregação, como lipossomas e nanopartículas, que melhoram a entrega do fármaco, aumentam a eficácia terapêutica, a estabilidade e biodisponibilidade, além de reduzir os efeitos colaterais (Pramar *et al.*, 2021; Ceruelos *et al.*, 2019). Alguns trabalhos investigaram o uso de lipossomas carregados com MDZ para tratar infecções localizadas, como periodontite, onde a liberação controlada e sustentada do fármaco pode proporcionar melhores resultados clínicos (Zamani *et al.*, 2010; Blanco *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2024).

## 1.5 Objetivos

Obtenção de agregados formados pelos biossurfactantes lecitina e deoxicolato de sódio (NaDC) na presença dos biopolímeros pectina ou gelatina em diferentes concentrações (1, 3 e 5% (m/m)) para serem utilizados como sistemas de encapsulação e liberação do fármaco MDZ.

### 1.5.2 Objetivos específicos

- Elaboração de sistemas formados por lecitina/NaDC nas concentrações 200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM com adição de pectina 1%, 3% e 5% (m/m) com e sem MDZ;
- Elaboração de sistemas formados por lecitina/NaDC nas concentrações 200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM com adição de gelatina 1%, 3% e 5% (m/m) com e sem MDZ;
- Determinação das propriedades reológicas dos sistemas elaborados;
- Determinação dos tamanhos dos agregados formados através de espalhamento de luz dinâmico (DLS);
- Determinação da estabilidade coloidal através do potencial zeta (PZ);
- Identificação dos componentes presente no sistema por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Estudo *in vitro* dos perfis de liberação de fármacos a partir das formulações utilizando células de difusão vertical;
- Avaliação dos mecanismos envolvidos na liberação modificada do fármaco.

## 2 CAPÍTULO 2: MATERIAIS E METODOLOGIA

### 2.1 Preparo dos sistemas

Para a preparação dos sistemas foi utilizado soluções estoque de lecitina de soja (Sigma-Aldrich®; CAS-No: 8002-43-5) e NaDC (Merck Millipore; CAS-No: 302-95-4) em metanol (Sigma-Aldrich®). As concentrações de lecitina/NaDC variaram, formando três grupos (200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM) como descrito na tabela 3.

Para cada grupo, foram misturados 5 ml de solução estoque de lecitina e 5 ml de solução estoque de NaDC, sob agitação a 400 rpm por 1h, seguidos de evaporação do metanol a 35°C. Após secos, foi adicionado 1%, 3% e 5% (m/m) de pectina cítrica (Sigma-Aldrich®; CAS-No:9000-69-5) ou gelatina (CAS-No: 25322-68-3) em solução aquosa e mantidos sob agitação magnética por 24h a 100 rpm.

Sistemas contendo MDZ (Sigma-Aldrich®) foram preparados com 100mM de lecitina e 200mM de NaDC. Cerca de 0,05g do fármaco foi dissolvido nas soluções aquosas de pectina ou gelatina a 1%, 3%, e 5% (m/m) e mantidos sob agitação magnética por 24h a 100 rpm.

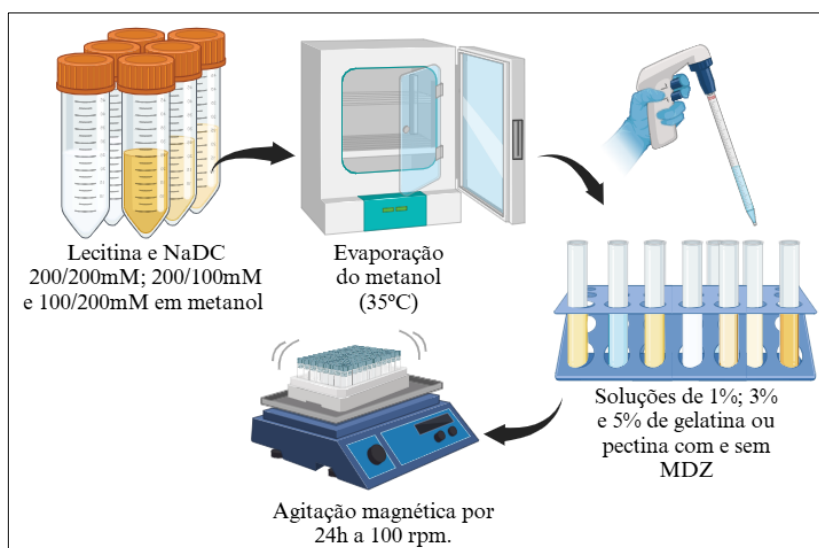
Tabela 3: Concentrações dos sistemas com e sem fármaco.

Sistemas	Concentração de Lecitina (mM)	Concentração de NaDC (mM)	Concentração de pectina ou gelatina (m/m)
Sistema 1	200	200	1%; 3% e 5%
Sistema 2	200	100	1%; 3% e 5%
Sistema 3	100	200	1%; 3% e 5%
Sistema 4/MDZ	100	200	1%; 3% e 5%

Fonte: Autoria própria.

Todos os sistemas foram deixados em repouso para as análises e registro por fotos em períodos de 24h, 48h e 72h. Após as amostras foram caracterizadas por FTIR, DLS, PZ, reologia e avaliação in vitro dos perfis de liberação das amostras contendo fármacos. A Figura 7 ilustra o procedimento de obtenção dos sistemas com e sem fármaco.

Figura 7: Esquema metodológico da obtenção dos sistemas.



Fonte: Autoria própria.

## 2.2 Reologia

As análises reológicas foram feitas usando o reômetro HaaKe RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific®) com temperatura controlada à 25,00 °C pelo banho termostático externo (Haake F6/8 - Thermo Fisher Scientific®), com precisão de  $\pm 0,01$  °C. Para a avaliação dos sistemas mais fluidos foi utilizado o conjunto de geometria Z20 Din Ti e para os sistemas menos fluidos foi usada a geometria de placas paralelas P61

para a base e PP35Ti para o rotor, com gap de 1 mm. As medições no modo oscilatório foram conduzidas dentro da faixa de viscoelasticidade linear, determinada por meio de varreduras dinâmicas de deformação. As análises de curva de fluxo foram feitas com a aplicação de uma taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) entre 0,01 e 100 s<sup>-1</sup> e as análises de frequência foram realizadas entre 0,01 e 100 Hz mantendo-se a tensão  $\tau = 0,1$  Pa.

### **2.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ)**

O tamanho dos agregados e o potencial Zeta foram determinados pelo equipamento Zetasizer Nanoseries modelo NanoZS90 (Malvern®). As amostras foram diluídas e colocadas em célula de quartzo ZEN2112 para as análises de DLS. As medidas de PZ foram feitas utilizando uma célula capilar (modelo DTS1070). As análises em triplicata, foram processadas pelo software Zetasizer® a 25 °C e analisadas por ANOVA unidirecional, com significância de 5% ( $p < 0,05$ ). O teste de Tukey com 5% de significância foi feito usando o software Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, EUA).

### **2.4 Infravermelho com Transformada de Furrier (FTIR)**

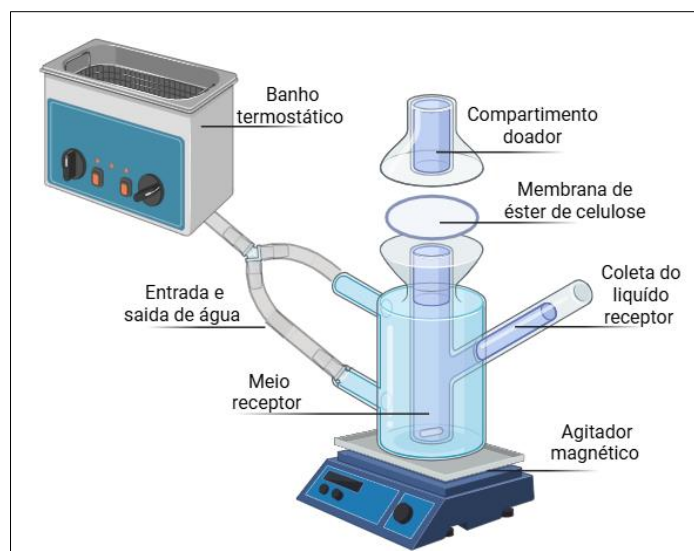
Para análise, as amostras foram secas na estufa por 24h a 30°C. Os espectros foram obtidos utilizando um espectrômetro FT-IR Tensor II (Bruker®) usando o acessório ATR (*Attenuated Total Reflectance*) ou pastilha de KBr. Foram feitas 64 varreduras no intervalo de 400 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup> com resolução de 2 cm<sup>-1</sup>.

### **2.5 Sistemas de liberação de fármaco**

#### *2.5.1 Avaliação in vitro dos perfis de liberação dos fármacos*

O estudo foi realizado em células de difusão de Franz (30 mL) a 37±3°C, com agitação constante de 300 rpm. Foi utilizado como meio receptor uma solução aquosa composta por 0,16M de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,00138M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 0,136M de NaCl. O funcionamento das células de difusão pode ser analisado na figura 8.

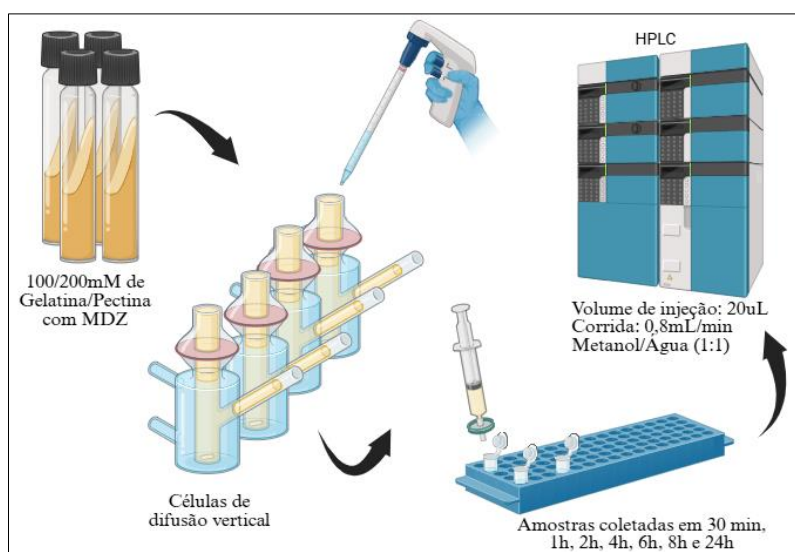
Figura 8: Funcionamento das células de difusão vertical de Franz.



Fonte: Autoria própria.

Uma membrana de éster de celulose hidratada foi posicionada entre os compartimentos doador e receptor. No compartimento doador, foram aplicados 50  $\mu\text{L}$  da solução receptora sobre a membrana, seguidos de 500  $\mu\text{L}$  da formulação. Amostras de 1,0 mL do líquido receptor foram coletadas em intervalos pré-definidos (30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h) e os volumes retirados foram repostos com a solução receptora. As quantidades cumulativas de fármaco foram calculadas com base no volume da célula, na concentração retirada e na massa total. A figura 9 ilustra os processos realizados para a avaliação dos perfis de liberação dos sistemas contendo gelatina ou pectina com MDZ.

Figura 9: Procedimentos para a análise dos perfis de liberação de fármaco.



Fonte: Autoria própria.

### 2.5.2 Determinação do teor do fármaco nos sistemas

O teor do Metronidazol foi determinado a partir de diluições de amostras de 0,5 mL da formulação. Amostras com gelatina foram solubilizadas na fase móvel, enquanto as com pectina foram solubilizadas em água Mili-Q. Após filtração em membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$ , as amostras foram quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE - Proeminence-Shimadzu®), equipado com controlador CBM-20A, bomba LC-20AT, detector de arranjo de diodos (DAD, modelo SPD-M20A), degaseificador (DGU-20A5R), forno (CTO-20A) e auto-amostrador (SIL-20AHT).

A fase móvel foi composta por metanol e água Mili-Q (1:1 v/v), volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ , fluxo isocrático de 0,8 mL/min, coluna de fase reversa C18 (Shimadzu® Shim-pack VP-ODS C18, 4,6  $\mu\text{m}$ , 250 x 4,6 mm), temperatura a 40°C, tempo de eluição de 10 min e detecção a 320 nm. Os dados foram adquiridos e analisados com o software Shimadzu® LabSolution. O teor foi expresso como a porcentagem de fármaco na composição e os ensaios de quantificação foram realizados em triplicata.

## 3 CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÕES

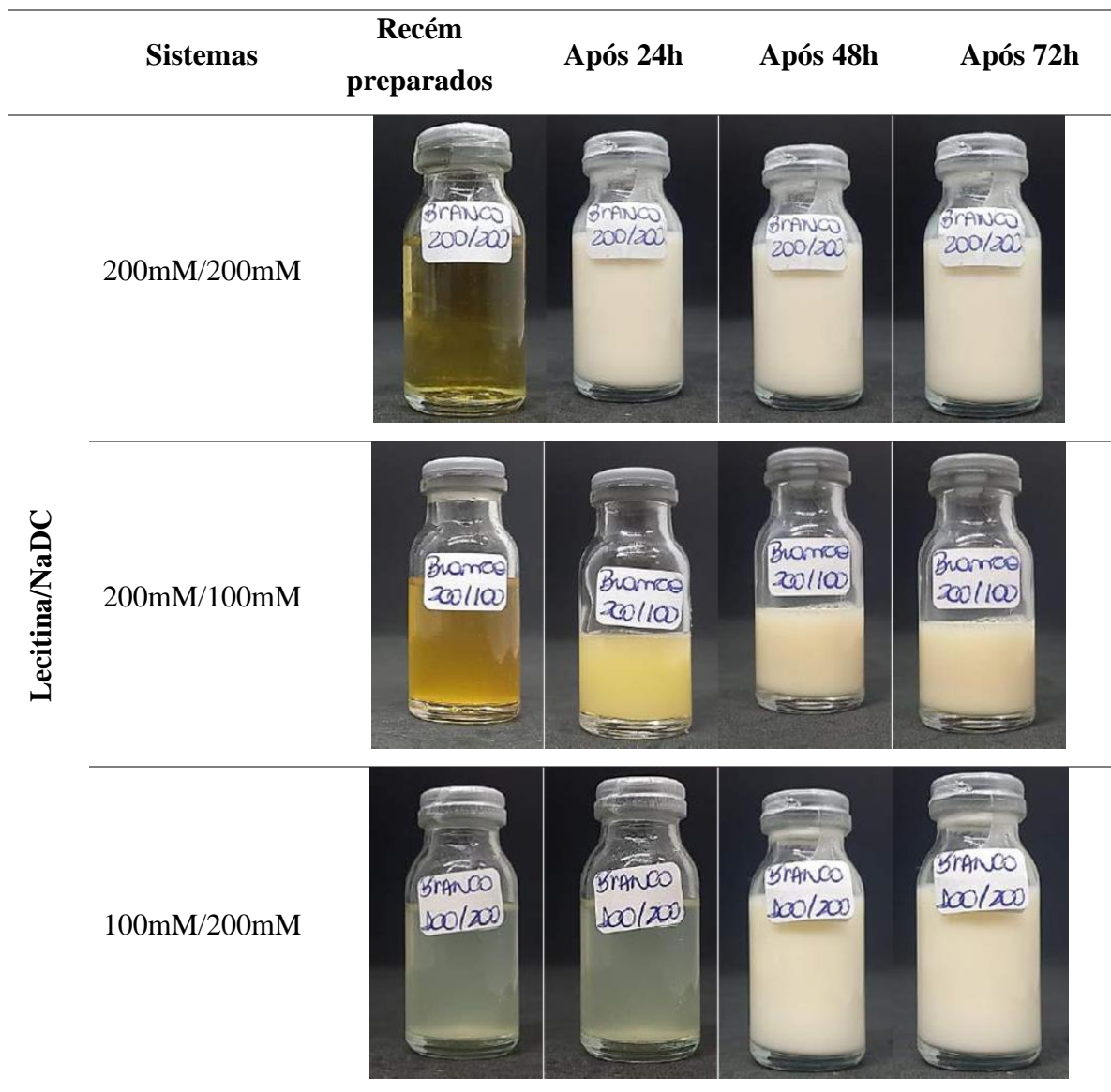
A escolha das concentrações de lecitina/NaDC 200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM foi baseada na necessidade da formação de sistemas mais viscoelásticos e para explorar como diferentes proporções desses componentes anfílicos influenciam o tamanho e morfologia dos agregados. Já as concentrações de 1%, 3% e 5% de pectina e gelatina foram escolhidas para avaliar o impacto desses biopolímeros na formação de agregados de lecitina e sal de bile adequados para a liberação do fármaco.

### 3.1 Sistemas sem matriz polimérica

Os aspectos macroscópicos dos sistemas de controle contendo 200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM de lecitina/NaDC em soluções aquosas podem ser observados na figura 10. Inicialmente, é visível uma coloração amarelada nos sistemas recém preparados, que podem ser atribuídos à lecitina (Chan *et al.*, 2009). Para os sistemas com 200mM/200mM, é perceptível que as amostras se tornam brancas e opacas após 24h, enquanto os sistemas 200mM/100 e 100mM/200mM a mudança de coloração e opacidade ocorrem somente após 48h, indicando a formação de estruturas maiores, possivelmente

lamelas, como observado em outros trabalhos (Khalatur *et al.*, 1996; Cautela *et al.*, 2017, Tung *et al.*, 2006; Agrawal *et al.*, 2021).

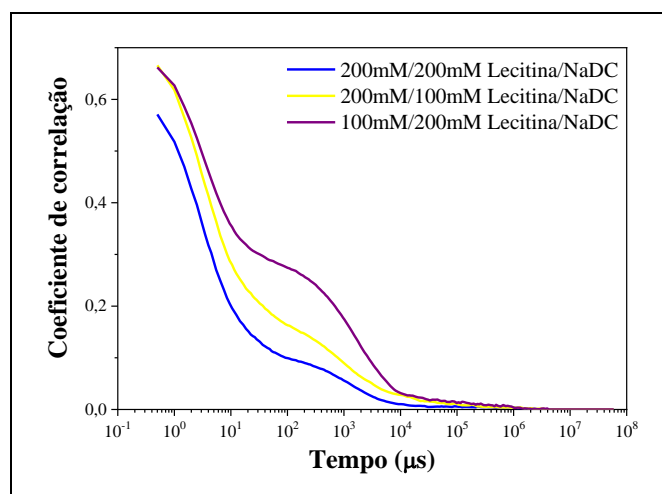
Figura 10: Características visuais dos sistemas 200mM/200mM, 200mM/100mM, 100mM/200mM de Lectina/NaDC, recém preparados, após 24h, 48h e 72h.



Fonte: Autoria própria.

O gráfico apresentado na figura 11 mostra a função de correlação obtida pela técnica de DLS. O decaimento exponencial da função de correlação reflete o movimento das partículas, a qual, partículas menores se movimentam mais rapidamente e apresentam um decaimento mais rápido, enquanto partículas maiores, com movimento mais lento, resultam em um decaimento mais retardado (Bhattacharjee, 2016; Stetefeld *et al.*, 2016; Postnov *et al.*, 2020).

Figura 11: Curva de correlação dos sistemas controle de lecitina/NaDC nas concentrações de 200mM/200mM, 200mM/100mM, 100mM/200mM.



Fonte: Autoria própria.

A curva azul correspondente ao sistema 200mM/200mM apresenta uma taxa de variação maior nos primeiros microssegundos, sugerindo a presença de partículas pequenas e altamente móveis, refletidas em um decaimento rápido da curva de correlação (Mariani *et al.*, 2016).

A curva amarela, representando o sistema 200mM/100mM mostra um decaimento mais lento e muito próximo a curva roxa referente ao sistema 100mM/200mM. Neste caso, a diminuição da concentração de NaDC, determina a redução na intensidade da repulsão eletrostática, permitindo a formação de partículas ligeiramente maiores e menos dinâmicas do que no sistema anterior (Mariani *et al.*, 2016; El-Demrdash *et al.*, 2021). Já a curva roxa, com menos lecitina disponível, a formação de micelas é limitada e resulta em partículas com tamanhos mais variados e maior heterogeneidade. Isso se traduz em um decaimento da correlação rápido seguido de um decaimento leve, demonstrando um comportamento bimodal (Mariani *et al.*, 2016).

A estabilidade dos sistemas coloidais pode ser determinada por análises de PZ, (tabela 4).

Tabela 4: Valores de PZ para os sistemas controle de lecitina/NaDC nas concentrações de 200mM/200mM; 200mM/100mM e 100mM/200mM

Lectina/NaDC	Controle	
	200mM/200mM	-12,1 ± 0,5 <sup>ab</sup>
	200mM/100mM	-8,5 ± 0,8 <sup>a</sup>
	100mM/200mM	-13,6 ± 1,1 <sup>abc</sup>

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.

Fonte: Autoria própria.

Os valores indicam que os agregados possuem uma carga superficial negativa devido à presença das moléculas do sal de bile. O sistema 100mM/200mM apresenta o valor de PZ mais negativo (-13,6 ± 1,1 mV), o que pode ser atribuído a uma maior dissociação do NaDC ou a interações mais efetivas entre a lecitina e o NaDC nesta proporção específica. O sistema 200mM/200mM tem um valor intermediário (-12,1 ± 0,5 mV), enquanto o sistema 200mM/100mM apresenta um valor negativo menor (-8,5 ± 0,8 mV), indicando uma menor repulsão eletrostática em que as partículas estão mais propensas a se agregarem e tornando o sistema menos estável. Os resultados foram submetidos a uma análise estatística (ANOVA) seguida de um teste de comparação múltipla, mostrando que os valores de PZ não apresentam diferenças significativas entre os sistemas controle.

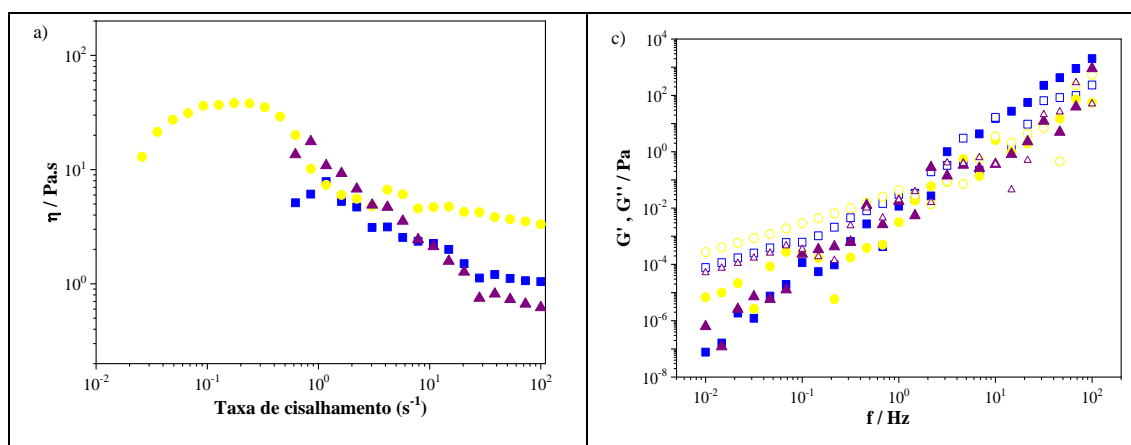
As medidas de reologia foram feitas no modo rotacional (curvas de fluxo) e no modo oscilatório (varredura dinâmica de tensão e varredura de frequências). As curvas de fluxo mostram como a viscosidade dos sistemas varia com a taxa de cisalhamento. Já as varreduras dinâmicas de tensão são feitas para determinar a região de viscoelasticidade linear, estabelecendo assim a faixa de deformação ou de tensão que pode ser utilizada sem comprometer a estrutura dos agregados formados (Barnes *et al.*, 1993; Macosko, 1994). A varredura de frequência fornece informações sobre a viscoelasticidade dos sistemas, comparando os módulos de armazenamento ( $G'$ ) e de perda ( $G''$ ), que é determinado através da aplicação de uma deformação senoidal, sem que seja perturbada a estrutura dos sistemas (Barnes *et al.*, 1993).

A figura 12a apresenta o gráfico da viscosidade ( $\eta$ ) em função da taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ). O sistema lecitina/NaDC 200mM/200mM apresenta um comportamento inicial caracterizado por um leve aumento na viscosidade em baixas taxas de cisalhamento (*shear thickening*), seguido por uma redução da viscosidade conforme a taxa de cisalhamento aumenta (*shear thinning*). Esse leve espessamento inicial ocorre em

baixas taxas de cisalhamento, devido às moléculas de lecitina/NaDC, em concentrações equimolares, formarem redes estruturais mais densas e à medida que o cisalhamento se intensifica, essas estruturas começam a se alinhar ao fluxo ou a se romper (Mekkaoui *et al.*, 2021; Njauw *et al.*, 2013). O sistema lecitina/NaDC 200mM/100mM apresenta um comportamento mais pronunciado de *shear thickening* em baixas taxas de cisalhamento, seguido por *shear thinning* em taxas mais elevadas. Por sua vez, o sistema 100mM/200mM apresenta apenas comportamento de *shear thinning* e os valores de viscosidade em altas taxas de cisalhamento é menor em comparação aos outros sistemas, o que pode ser explicado pelo excesso de NaDC em relação à lecitina, favorecendo a formação de micelas menores ou menos estáveis.

O gráfico da figura 12b apresenta os dados de varredura de frequência para os sistemas controle. O sistema lecitina/NaDC 200mM/200mM apresenta o ponto de *crossover* em 1,5 Hz e em altas frequências os valores de  $G'$  aumentam, mostrando a formação de uma estrutura rígida. No sistema lecitina/NaDC 200mM/100mM, o ponto de *crossover* ocorre em frequências mais altas (10 Hz), sugerindo uma rede menos densa e menos elástica. O sistema lecitina/NaDC 100mM/200mM apresenta os menores valores de  $G'$  numa dada frequência, indicando que o sistema é mais fluido e a formação de redes tridimensionais é menos eficiente.

Figura 12: Ensaios reológicos a) Curva de fluxo e b) varredura de frequências do controle de lecitina/NaDC (■) 200mM/200mM (●)200mM/100mM e (▲) 100mM/200mM.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

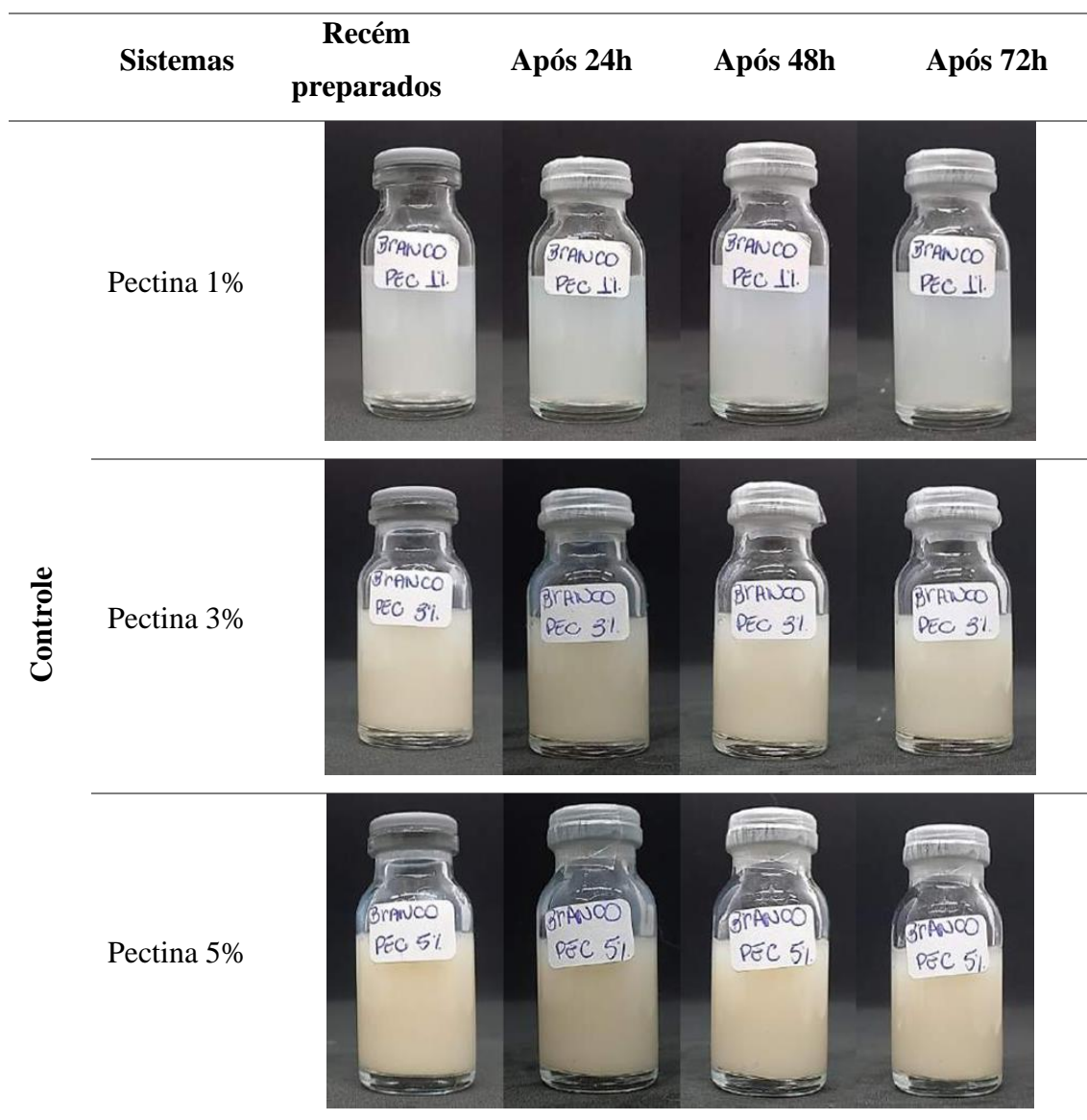
Fonte: Autoria própria.

### 3.2 Sistemas contendo matriz polimérica

### 3.2.1 Influência da pectina na formação de agregados

A figura 13 apresenta as características macroscópicas das soluções controle de pectina 1%; 3% e 5%. É possível analisar que a pectina 1% apresenta uma tonalidade de branco opaco e que nas concentrações maiores os sistemas são levemente amarelados e opacos. Não há variação visual das soluções de pectina no período analisado.

Figura 13: Características visuais dos sistemas de controles de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.



Fonte: Autoria própria.

A figura 14 apresenta os sistemas contendo lecitina/NaDC 200mM/200mM com diferentes concentrações de pectina.

Figura 14: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lecitina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

Sistemas	Recém preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h	
200mM/200mM	Pectina 1%				
	Pectina 3%				
	Pectina 5%				

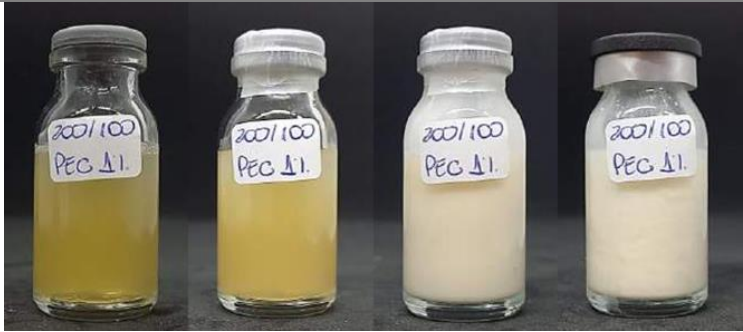

Fonte: Autoria própria.

As soluções de lecitina/NaDC com 1% de pectina no intervalo de até 24h apresentaram uma aparência mais amarelada e translúcida, sugerindo que as partículas coloidais estão homogeneamente dispersas no meio (Agrawal *et al.*, 2021). Após 48h, é observado um aumento na turbidez do sistema ficando esbranquiçado, indicando que as partículas começam a se agregar (Tung *et al.*, 2006; Agrawal *et al.*, 2021). Os sistemas contendo 3% e 5% de pectina apresentam uma instabilidade coloidal já nas primeiras horas, evoluindo o processo de agregação por até 48h após o preparo. Em particular, para a amostra de 5% observa-se a formação de sistemas que não escoam do frasco após 72h de preparo, indicando a formação de um gel. Neste caso, a maior concentração de pectina

levou a formação de uma rede tridimensional, possivelmente devido à reticulação com cátions divalentes presentes no sistema (Lins, 2010). Assim, a ausência de formação de gel nos sistemas com 1% e 3% pode ser atribuída à uma concentração mínima de pectina para atingir a densidade crítica de interações entre a pectina, lecitina, NaDC, as moléculas de água e os cátions divalentes, que permitem a formação do gel (Tung *et al.*, 2006; Agrawal *et al.*, 2021).

Os sistemas contendo menor concentração de NaDC (lecitina/NaDC 200mM/100mM) na presença de pectina (fig. 15) são macroscopicamente semelhantes aos sistemas lecitina/NaDC 200mM/200mM, exceto pela não formação de gel com 5% de pectina. Neste caso, a ausência da formação de gel pode ser atribuída a diferença na concentração de NaDC, assim como o favorecimento da formação de micelas ou outras estruturas coloidais que acabam por criar um ambiente físico-químico que não permite a formação de uma rede tridimensional. Além disso, pode ser ocorrente a agregação de íons necessários para a gelificação impedindo o processo (Said *et al.*, 2023; McClements, 2017).

Figura 15: Características visuais dos sistemas de 200mM/100mM Lectina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

		<b>Recém preparados</b>				
		<b>Sistemas</b>	<b>Após 24h</b>	<b>Após 48h</b>	<b>Após 72h</b>	
<b>200mM/100mM</b>	Pectina 1%					
	Pectina 3%					

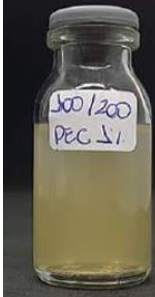



Pectina 5%

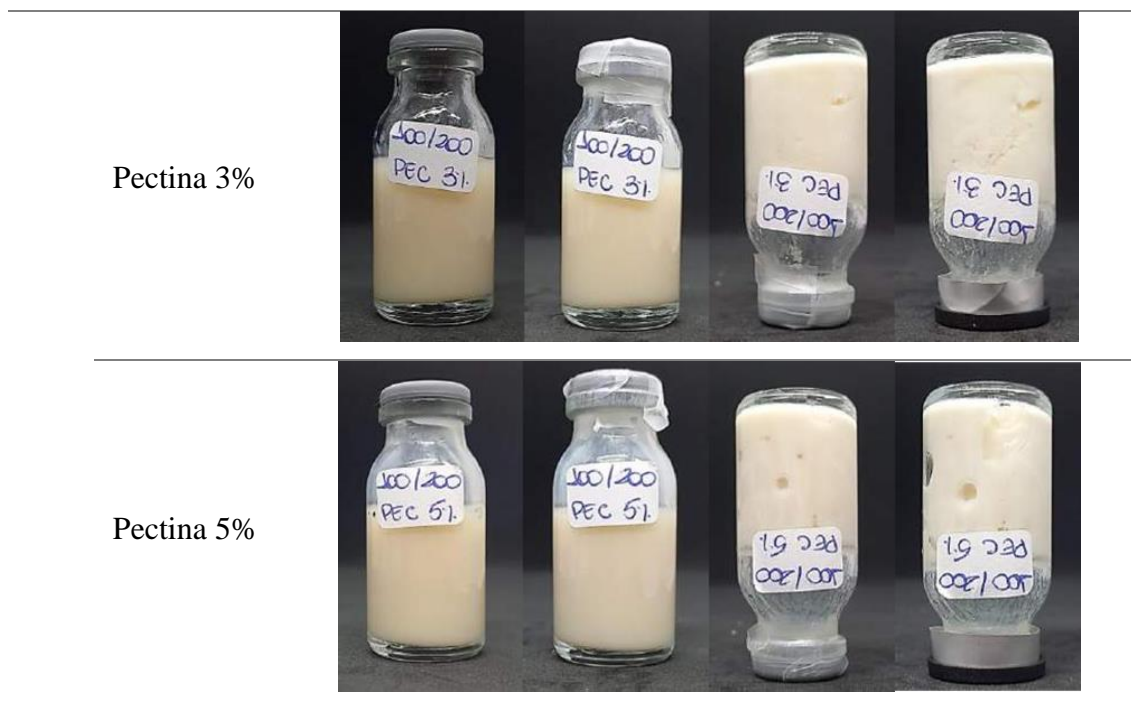


Fonte: Autoria própria.

Os sistemas lecitina/NaDC 100mM/200mM (fig. 16) recém preparados são menos amarelados dos que os apresentados anteriormente, uma vez que o amarelado é devido aos carotenoides lipossolúveis que estão presentes na lecitina, e nesses sistemas a lecitina está menos concentrada (Kopec *et al.*, 2018). O NaDC em maiores concentrações pode ajudar a desestabilizar as micelas de lecitina formadas ou outras estruturas coloidais, liberando íons que podem ser necessários para a gelificação do sistema como é visto nas três concentrações de pectina após 48h. Além disso, a protonação ou a desprotonação dos grupos carboxila e hidroxila da molécula de NaDC pode alterar a carga geral do sistema, afetando conseqüentemente o pH e a força iônica da solução de maneira que favoreça a formação de gel (Cautela *et al.*, 2017).

Figura 16: Características visuais dos sistemas de 100mM/200mM lecitina/NaDC de pectina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

Sistemas	Recém preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h
100mM/200mM Pectina 1%				



Fonte: Autoria própria.

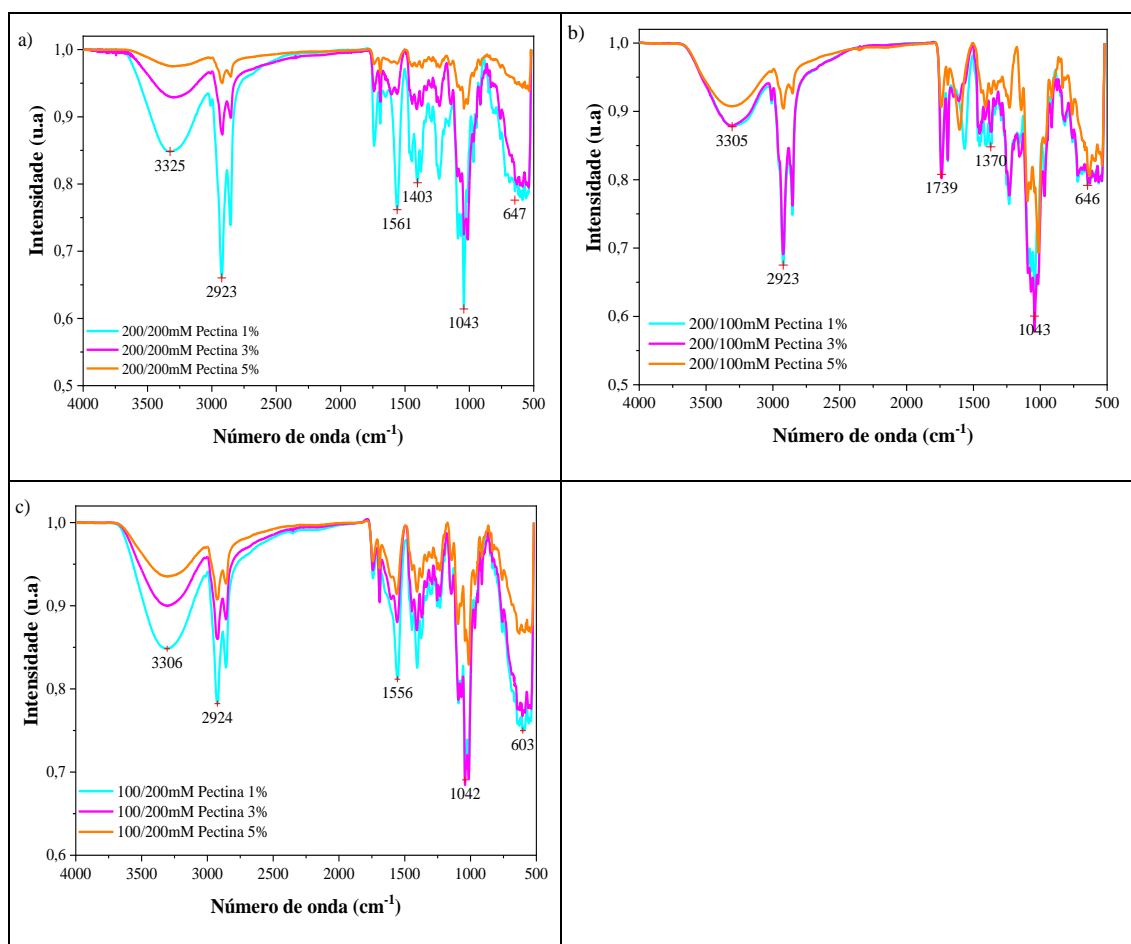
Os espectros de infravermelho dos sistemas de lecitina/NaDC 200mM/200mM na presença de pectina (1%, 3% e 5%) são apresentados na figura 17a. As bandas em  $2923\text{ cm}^{-1}$  e  $3325\text{ cm}^{-1}$  está associada ao estiramento C-H, e ao estiramento O-H, respectivamente, presentes na lecitina, no NaDC e na pectina. As bandas em  $1403\text{ cm}^{-1}$  e em  $1561\text{ cm}^{-1}$  é característica das vibrações de deformação simétrica dos grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ). A banda em  $1043\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento C-O-C presente na estrutura da pectina (Choragudi *et al.*, 2021; Barani *et al.*, 2018). As amostras contendo 1% e 3% de pectina apresentam espectros semelhantes, enquanto a amostra com 5% apresenta uma diferença na intensidade das bandas. Isso ocorre porque concentrações de 1% e 3% de pectina representam sistemas onde a quantidade de pectina é suficiente para interagir com todas as moléculas dos surfactantes (Barani *et al.*, 2018).

Os espectros dos sistemas lecitina/NaDC 200mM/100mM (fig. 17b) são semelhantes aos espectros discutidos para o sistema anterior. Entretanto, é observado como diferença o surgimento da banda  $1739\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento dos grupos carbonila (C=O) e a banda em  $1370\text{ cm}^{-1}$ , relacionada aos grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) (Choragudi *et al.*, 2021; Barani *et al.*, 2018).

Os espectros dos sistemas de lecitina/NaDC 100mM/200mM com pectina (fig. 17c) mostram que o aumento na concentração da pectina leva a uma diminuição na intensidade das bandas, principalmente àquelas associadas à lecitina. A banda

proeminente em  $1556\text{ cm}^{-1}$  indica interações envolvendo grupos carboxilato (estiramento assimétrico de carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ) ou amino (N-H), possivelmente refletindo a reestruturação dos agregados. A redução da lecitina nesse sistema pode diminuir a formação de micelas ou agregados, modificando a maneira como as moléculas de NaDC e pectina interagem (Zhang *et al.*, 2017), alterando a intensidade das bandas.

Figura 17: Espectro da a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo pectina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%.

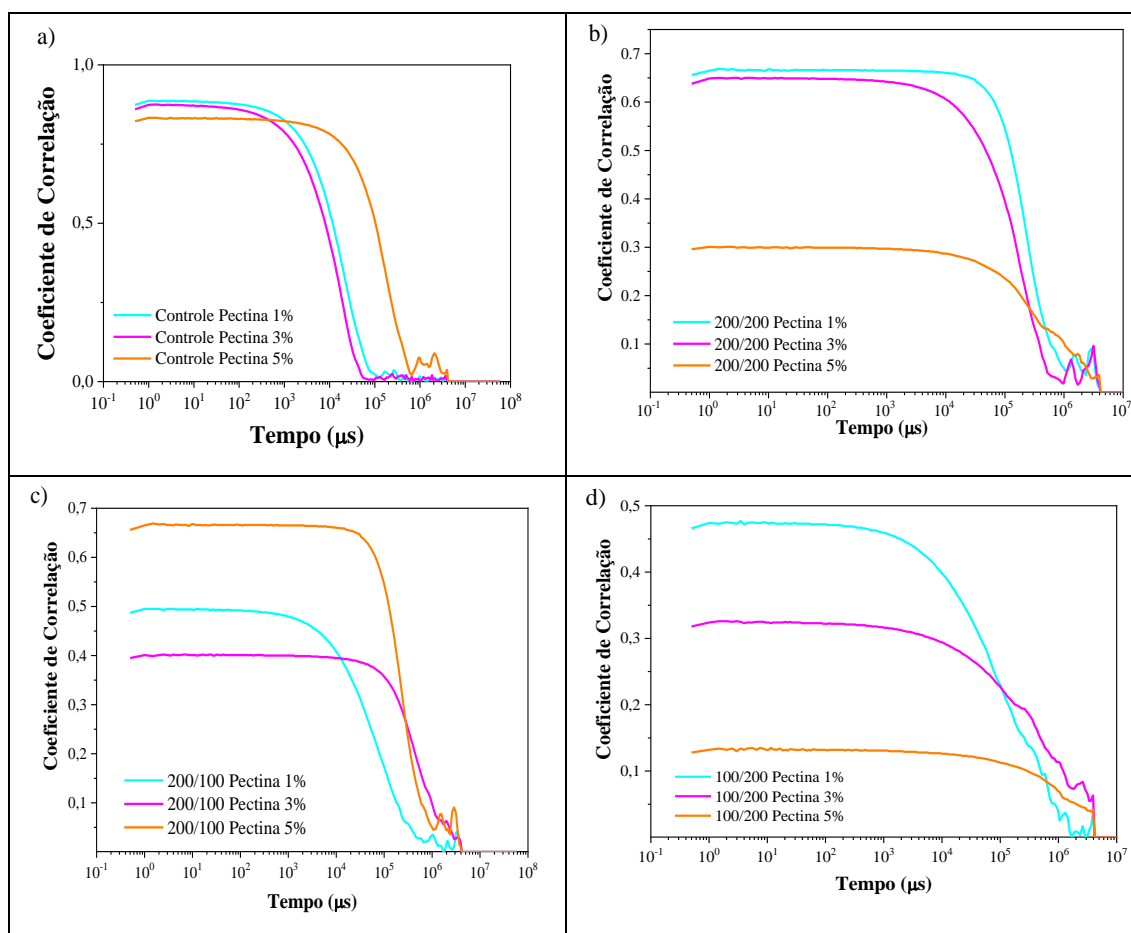


Fonte: Autoria própria.

O gráfico de função de correlação obtido por DLS para sistemas controle de pectina a 1%, 3% e 5% pode ser observado na figura 18a. No sistema a 1% e 3%, a baixa concentração de pectina resulta curvas de correlação que decaem mais rapidamente, caracterizando sistemas com partículas pequenas e maior homogeneidade, com poucas interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas, fazendo com que as partículas se difundam rapidamente no meio (Huang *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2009). Por outro lado,

no sistema com 5% pectina, a curva de correlação cai a uma taxa menor devido à alta concentração das cadeias poliméricas, levando a interações intermoleculares mais intensas e à formação de grandes agregados ou redes. Neste caso, essas partículas maiores têm menor mobilidade no meio devido ao aumento do raio hidrodinâmico e à maior viscosidade do sistema (Lima *et al.*, 2009).

Figura 18: Curva de correlação a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo pectina (-) 1%; (-) 3% e (-) 5%.



Fonte: Autoria própria.

O gráfico de função de correlação para o sistema lecitina/NaDC 200mM/200mM mostra um decaimento mais rápido para os sistemas com 3% e 5% de pectina, indicando que as partículas formadas são menores. Neste caso, quando a pectina está presente em concentrações mais altas, ela passa a ser o principal agente estabilizante, competindo com os surfactantes pela superfície das partículas e favorecendo interações pectina-partícula em vez de interações surfactante-surfactante (Lima *et al.*, 2009), resultando em partículas

menores e mais dispersas. Por outro lado, no sistema com 1% de pectina é observado um decaimento mais lento da curva, sugerindo que a concentração de pectina é insuficiente para estabilizar adequadamente as partículas, permitindo que as interações se intensifiquem e resultem na formação de agregados maiores, contribuindo para a dispersão de tamanhos variáveis e resultando em um sistema mais polidisperso.

No sistema 200mM/100mM, a redução na concentração de NaDC altera o equilíbrio do sistema, gerando um comportamento diferente. Nesse caso, em 1% de pectina, a baixa quantidade do polímero limita as interações com os surfactantes, resultando em partículas menores com alta mobilidade. Em 3% de pectina, a concentração intermediária favorece a formação de agregados maiores, já que há maior disponibilidade do polímero para interagir com a lecitina e o NaDC. Já em 5% de pectina, o excesso do polímero satura as interações com os surfactantes, estabilizando partículas menores e reduzindo a formação de agregados grandes (Huang *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2009), o que novamente resulta em partículas menores, mais móveis e em um decaimento mais rápido da curva, em comparação ao sistema com 3%.

Por outro lado, no sistema 100mM/200mM, a diminuição da concentração de lecitina influencia diretamente a capacidade do sistema de formar micelas ou vesículas estáveis, o que torna a proporção de pectina ainda mais crítica. Nesse sistema, as curvas de 1% e 3% apresentam decaimento mais rápido, sugerindo partículas menores e mais dinâmicas. Já o sistema com 5% de pectina tem decaimento mais lento, o que pode ser explicado por interações competitivas entre o polímero e os surfactantes, levando à formação de partículas maiores ou menos dinâmicas. A redução de lecitina limita a estabilidade geral das partículas, tornando o comportamento mais dependente da interação com a pectina (Huang *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2009).

O fato de o valor máximo da função de correlação para 5% no sistema 100mM/200mM ser muito menor que 1 e não apresentar comportamento de decaimento exponencial sugere que há uma falta de uniformidade no sistema, que pode ocorrer devido à formação de estruturas instáveis ou mal definidas, como agregados de tamanho heterogêneo ou partículas grandes que não seguem um movimento Browniano típico (Yang *et al.*, 2008; Duri *et al.*, 2005). Esse comportamento também pode ser indicativo de um sistema fora de equilíbrio, onde as interações entre os componentes (lecitina, NaDC e pectina) não são suficientemente coesas para formar partículas bem definidas.

A tabela 5 mostra os valores de PZ e seus desvios padrão para diferentes sistemas de lecitina/NaDC contendo pectina. No sistema controle de pectina os valores de PZ são

negativos, indicando uma dispersão estável devido à repulsão eletrostática entre as partículas carregadas negativamente. A variação nos valores com diferentes concentrações de pectina pode estar associada à quantidade de carga negativa fornecida pela pectina (Clogston e Patri, 2011; Mukherjee *et al.*, 2016).

Tabela 5: Valores de PZ para sistemas de lecitina/NaDC contendo pectina.

	<b>Pectina 1%</b>	<b>Pectina 3%</b>	<b>Pectina 5%</b>
	-22,1±2,94 <sup>abcd</sup>	-10,3±4,19 <sup>a</sup>	-12,0±5,67 <sup>ab</sup>
<b>200mM/200mM</b>	-27,3±12,5 <sup>cde</sup>	-32,8±14,0 <sup>bcd</sup>	-35,30±6,69 <sup>de</sup>
<b>200mM/100mM</b>	-32,1±12,1 <sup>de</sup>	-38,2±11,70 <sup>de</sup>	-20,30±6,28 <sup>abcd</sup>
<b>100mM/200mM</b>	-38,9±7,66 <sup>e</sup>	-39,4±7,57 <sup>de</sup>	-46,70±5,09 <sup>de</sup>

*Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.*

Fonte: Autoria própria.

Para a combinação de 200mM/200mM de lecitina/NaDC os valores de PZ mudam significativamente, resultado em valores mais negativos para pectina 1% (-27,3±12,5 mV), pectina 3% (-32,8 ± 14,0 mV) e para pectina 5%, (-35,30 ± 6,69 mV). Esses resultados indicam que, aumentar a concentração de pectina pode aumentar a adsorção do polímero na superfície das partículas, afetando as cargas superficiais e, conseqüentemente, o PZ (Clogston e Patri, 2011; Mukherjee *et al.*, 2016).

Reduzindo a quantidade de NaDC para 100mM é perceptível um aumento nos valores negativos do PZ para pectina 1% (-32,1 ± 12,1 mV) e pectina 3% (-38,2 ± 11,7 mV), indicando maior estabilidade. Para pectina 5%, a negatividade diminui (-20,30 ± 6,28 mV) em comparação com a proporção anterior, sugerindo que a quantidade de NaDC influencia fortemente a carga superficial das partículas (Clogston e Patri, 2011; Mukherjee *et al.*, 2016).

Quando a quantidade de NaDC é maior que a de lecitina (100mM/200mM), há um aumento em módulo dos valores negativos do PZ para pectina 1% (-38,9 ± 7,66 mV), pectina 3% (-39,4 ± 7,57 mV), e pectina 5% (-46,7 ± 5,0 mV). Esse comportamento pode ser atribuído à maior concentração de NaDC, que intensifica a carga negativa na superfície das partículas devido à sua natureza aniônica, resultando em uma estabilidade coloidal significativa, como indicado pelos altos valores negativos de PZ (Clogston e Patri, 2011; Mukherjee *et al.*, 2016).

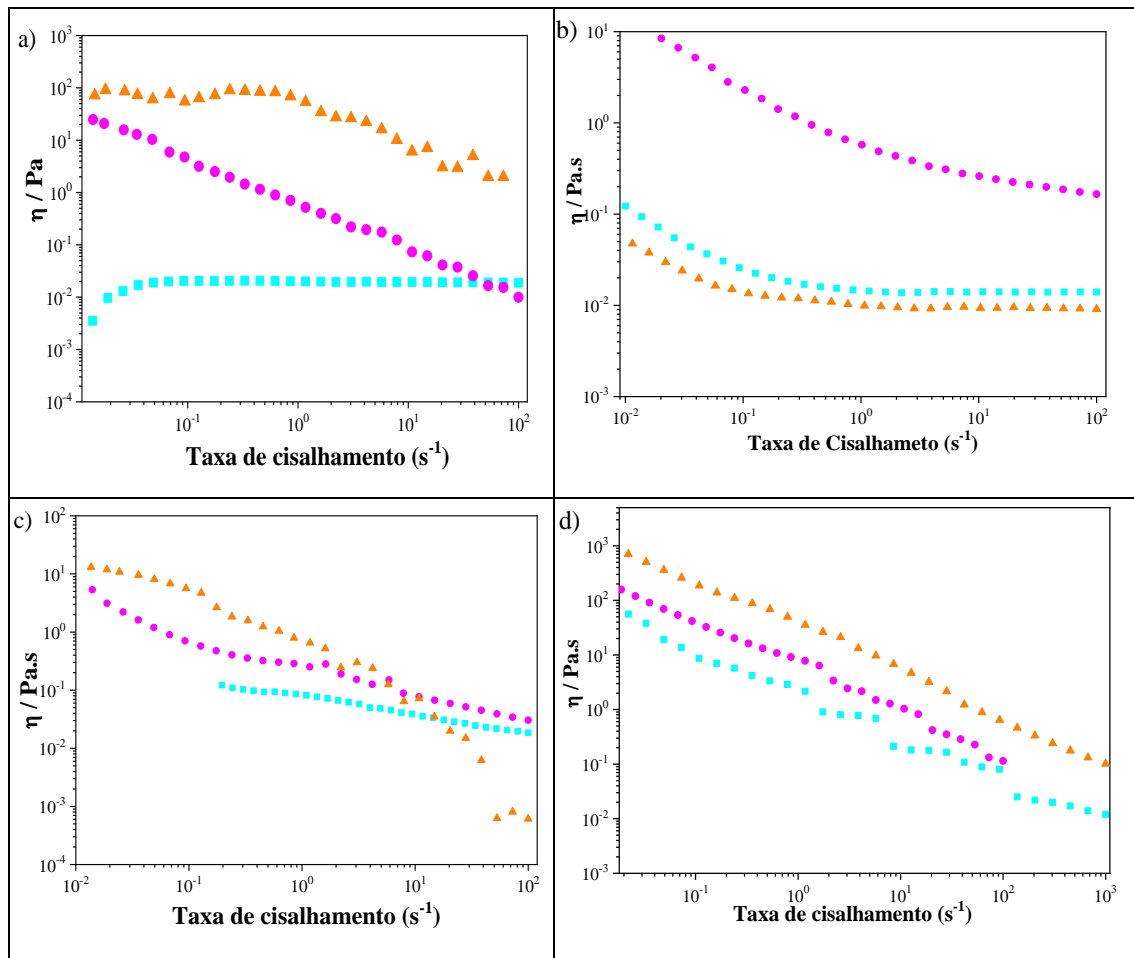
Os ensaios reológicos apresentados na Figura 19 mostram as curvas de fluxo de soluções de pectina em concentrações de 1%, 3% e 5%, comparando sistemas controle e sistemas contendo lecitina/NaDC em diferentes proporções (200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM). Nos sistemas controle de pectina, a viscosidade inicial das soluções aumenta proporcionalmente à concentração do biopolímero. A solução com 1% de pectina apresenta uma viscosidade inicial relativamente baixa, que permanece constante em baixas taxas de cisalhamento, apresentando um comportamento típico de soluções diluídas, onde as interações intermoleculares são limitadas e as macromoléculas estão amplamente dispersas (Rubio-Hernández *et al.*, 2020). Com 3% de pectina, a viscosidade diminui progressivamente com o aumento do cisalhamento, um comportamento *shear thinning* atribuído ao alinhamento das cadeias de pectina ao longo do fluxo. Para o sistema com 5% de pectina, a viscosidade inicial é significativamente maior, indicando uma solução com uma densa malha polimérica. Neste sistema, a curva de viscosidade apresenta leve aumento em resposta ao cisalhamento, denominado "*shear thickening* transitório", e é atribuído a um rearranjo temporário ou reestruturação das macromoléculas antes que elas se alinhem completamente (Milchev *et al.*, 1999; Porfirio, 2021; Rubio-Hernández *et al.*, 2020).

Nos sistemas com lecitina/NaDC, os resultados também mostram comportamento *shear thinning*, contudo, com variações dependendo da concentração de pectina e das proporções de lecitina/NaDC. No sistema 200mM/200mM, a viscosidade inicial do sistema com 5% de pectina é menor do que a do sistema com 1%, que pode ser explicado pela formação de redes incompletas, onde, em concentrações mais altas de pectina, as moléculas tendem a formar agregados que reduzem as interações efetivas, resultando em uma viscosidade inicial mais baixa. Por outro lado, o sistema com 3% de pectina apresenta uma viscosidade significativamente maior, indicando que a densidade de pectina atinge um ponto crítico, resultando em uma rede viscosa e estruturada. Nos sistemas 200mM/100mM e 100mM/200mM, a viscosidade aumenta proporcionalmente à concentração de pectina, o que indica uma maior formação de estruturas intermoleculares mais densas.

As diferenças observadas entre o sistema controle e aqueles contendo lecitina/NaDC podem ser explicadas pelas interações químicas e estruturais que ocorrem no sistema. A pectina, como um polissacarídeo aniônico, possui grupos carboxílicos que podem interagir com as micelas por meio de ligações iônicas ou de hidrogênio. A lecitina/NaDC, por sua vez, formam micelas que podem interferir na organização da rede

polimérica, modificando o comportamento reológico (Milchev, *et al.*, 1999; Porfirio, 2021).

Figura 19: Ensaio reológico Curva de fluxo *a)* controle de pectina, *b)* 200mM/200mM, *c)* 200mM/100mM e *d)* 100mM/200mM de pectina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

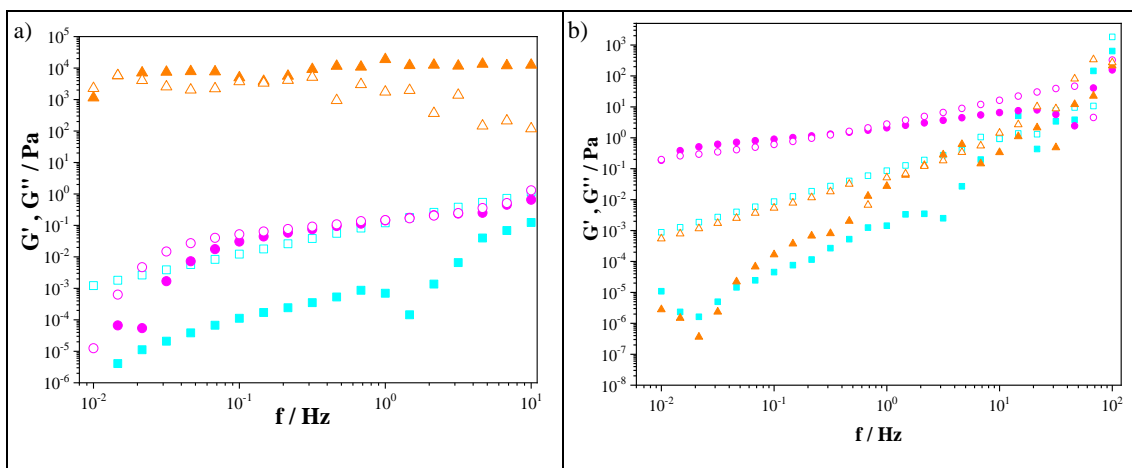
Fonte: Autoria própria.

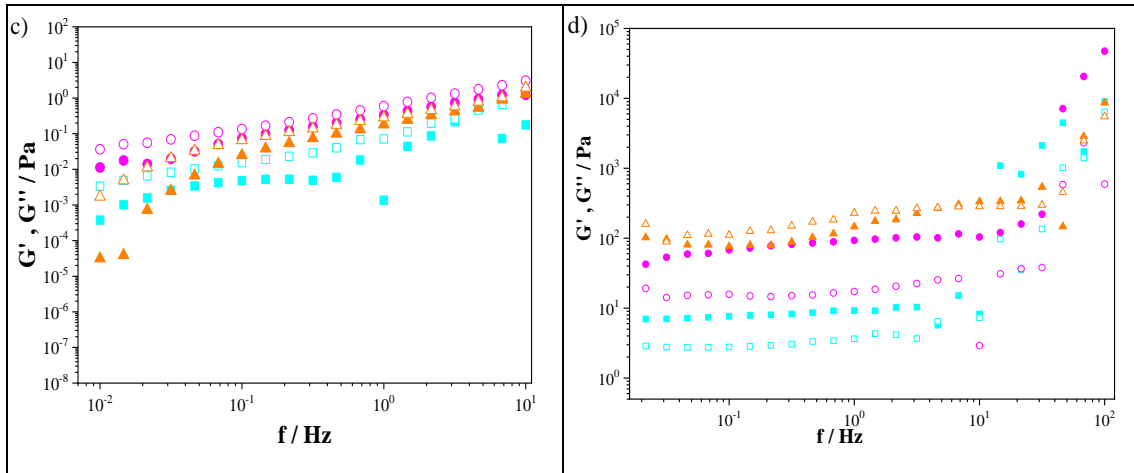
Os resultados reológicos da varredura de frequência são apresentados na figura 20. No sistema controle,  $G''$  é maior que  $G'$  em todas as concentrações de pectina, com exceção da concentração de 5%, em que ocorre um ponto de *crossover* em baixas frequências (0,15 Hz), onde  $G'$  supera  $G''$ . No sistema 200mM/200mM, com 1% de pectina,  $G''$  predomina  $G'$  em toda a faixa de frequência, refletindo a ausência de uma rede tridimensional suficientemente coesa. Para 3% e 5% de pectina, em baixas frequências, o sistema é dominado pela dissipação viscosa ( $G'' > G'$ ), enquanto em

frequências intermediárias, a rigidez elástica temporária predomina. Entretanto, em frequências muito altas, a rede perde sua estabilidade, e  $G''$  novamente supera  $G'$ . No sistema 200/100mM,  $G''$  também é maior que  $G'$  em todas as concentrações de pectina, pois, neste caso, a menor quantidade de NaDC reduz a formação de agregados suficientemente fortes para sustentar uma rede tridimensional altamente elástica (Mohammed e Mohammed, 2009; Nommensen *et al.*, 2001) Contudo, em 5% de pectina, o aumento da densidade polimérica favorece interações intermoleculares que permitem um comportamento viscoelástico, particularmente em frequências mais altas, onde  $G'$  supera  $G''$  (Nommensen *et al.*, 2001).

No sistema 100mM/200mM, a maior concentração de NaDC favorece interações iônicas com os grupos carboxilatos da pectina, resultando em um comportamento elástico predominante. Para 1% e 3% de pectina,  $G'$  é maior que  $G''$  em toda a faixa de frequência, indicando a formação de redes tridimensionais mais rígidas e coesas. No entanto, para 5% de pectina,  $G'' > G'$ , refletindo uma maior dissipação viscosa. Esse comportamento é justificado pela densidade estrutural da rede formada, que resulta em maior resistência a deformações lentas, porém, as estruturas podem se reorganizar para sustentar um comportamento elástico em frequências intermediárias (Mohammed e Mohammed, 2009; Nommensen *et al.*, 2001).

Figura 20: Ensaios reológicos varredura de frequências a) controle de pectina, b) 200mM/200mM, c) 200mM/100mM e d) 100mM/200mM de pectina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.





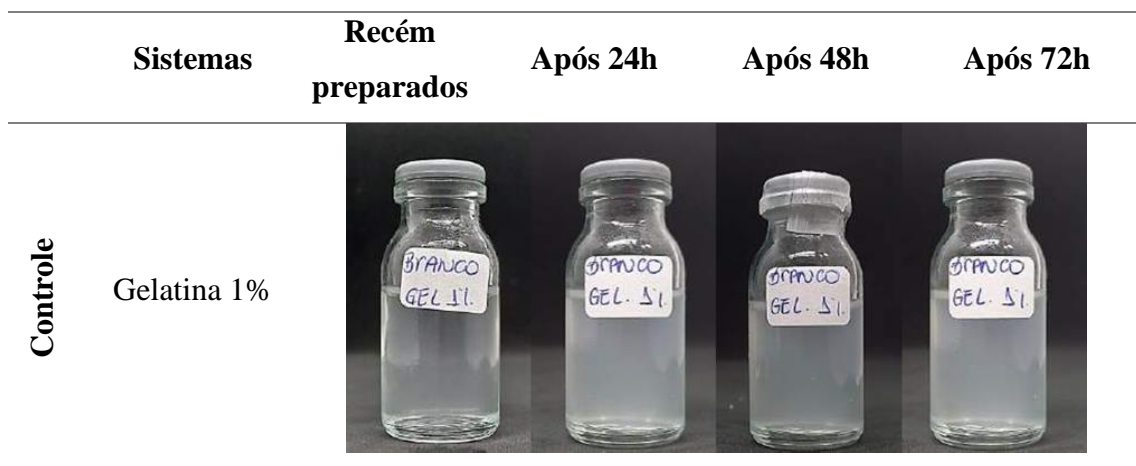
\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

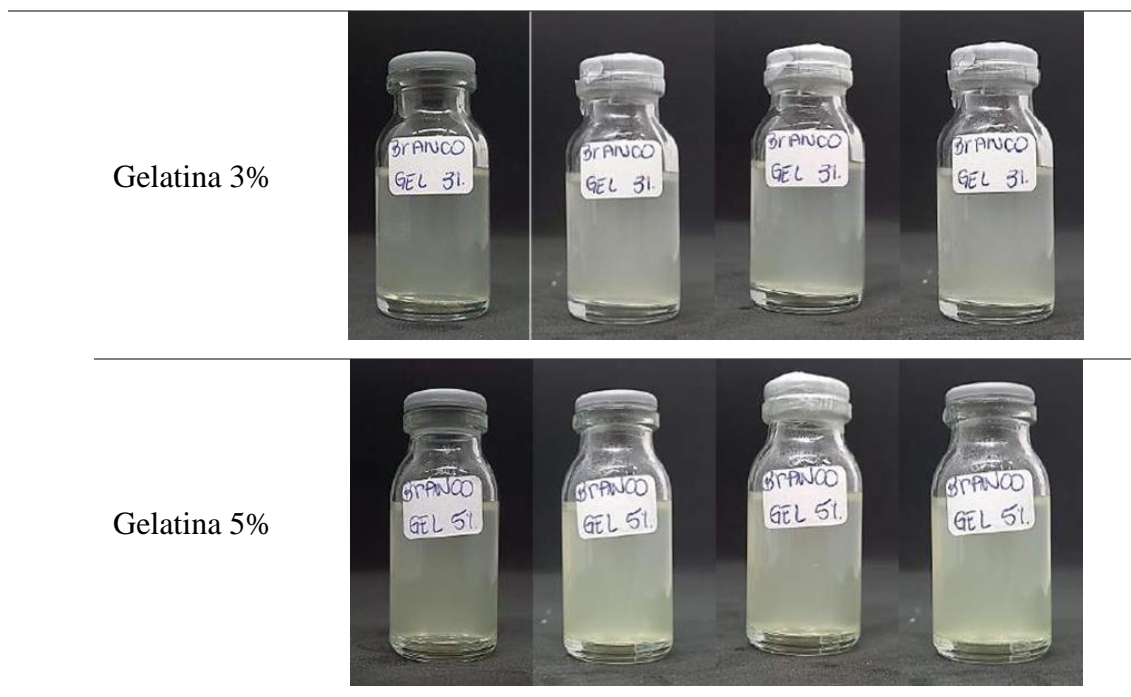
Fonte: Autoria própria.

### 3.2.2 Influência da gelatina na formação de agregados

Os sistemas contendo proporções de 1%, 3% e 5% de gelatina utilizados como controle podem ser vistos na figura 21. O sistema com 1% de gelatina é mais translúcido comparado ao sistema contendo 5% que se apresenta mais turvo e com aspecto amarelado devido aos próprios resíduos gelatinosos. Não há nenhuma alteração macroscópica nos sistemas nos períodos analisados.

Figura 21: Características visuais dos sistemas de controle de gelatina (1%,3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.



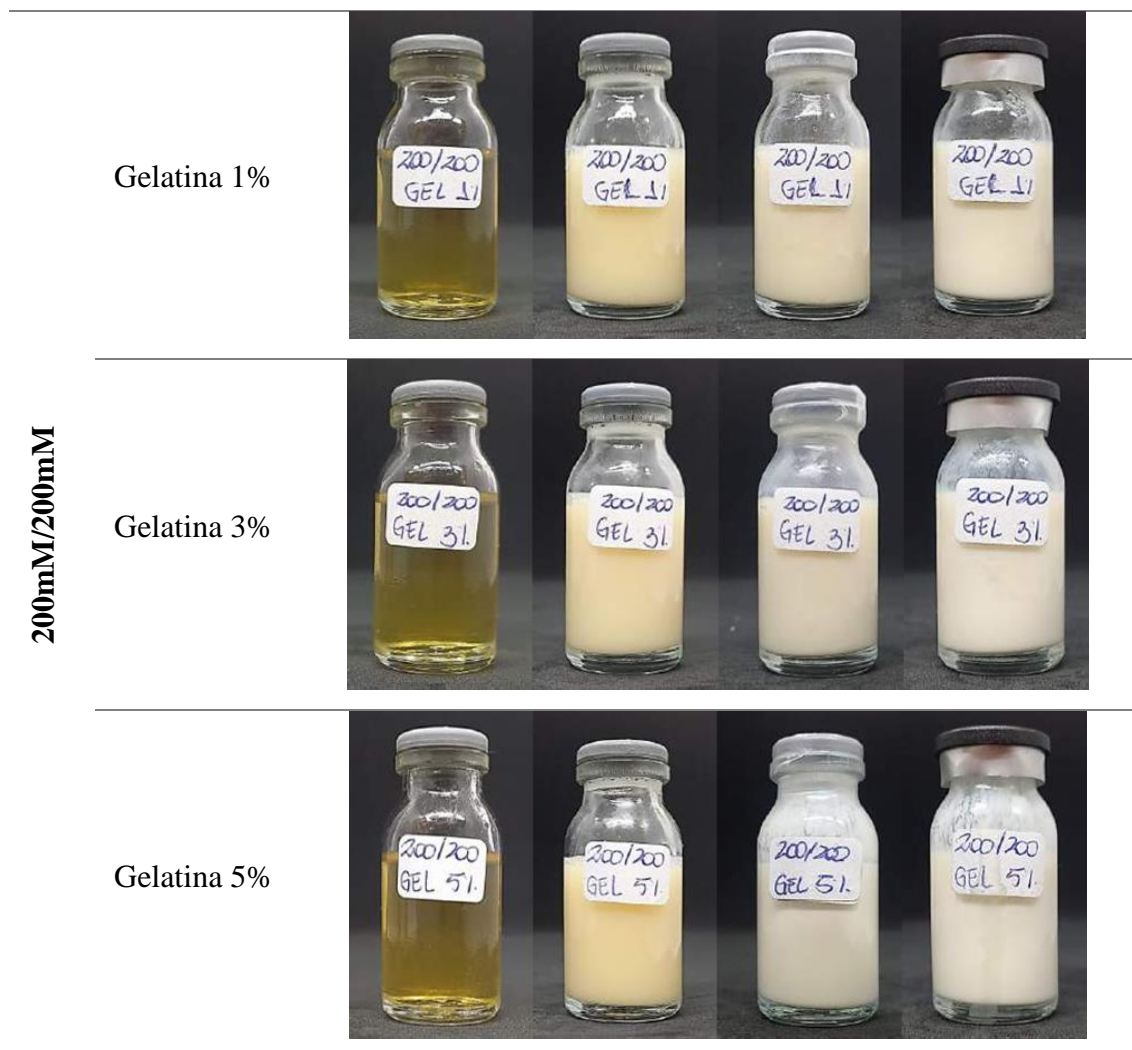


Fonte: Autoria própria.

Nos sistemas lecitina/NaDC 200mM/200mM na presença de gelatina (fig. 22) é possível perceber que os sistemas recém preparados apresentam uma cor amarelada advindo da lecitina e devido à dispersão inicial dos componentes, que ainda não tiveram tempo para interagir completamente e formar estruturas maiores, como explicado anteriormente. Após 24 horas, os sistemas já se apresentam menos amarelados, indicando que as moléculas de lecitina/NaDC começaram a formar agregados e à medida que interagem entre si, a gelatina pode começar a formar uma rede ou interagir com esses agregados, resultando em um aumento na turbidez e dando ao sistema um aspecto esbranquiçado (Cautela *et al.*, 2017). Com o passar do tempo, essas interações se tornam mais pronunciadas e após 48 e 72 horas, a rede de gelatina pode se tornar mais estruturada e os agregados maiores, resultando em um aspecto mais esbranquiçado do que os apresentados anteriormente.

Figura 22: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lecitina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

Sistemas	Récem preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h
----------	------------------	----------	----------	----------

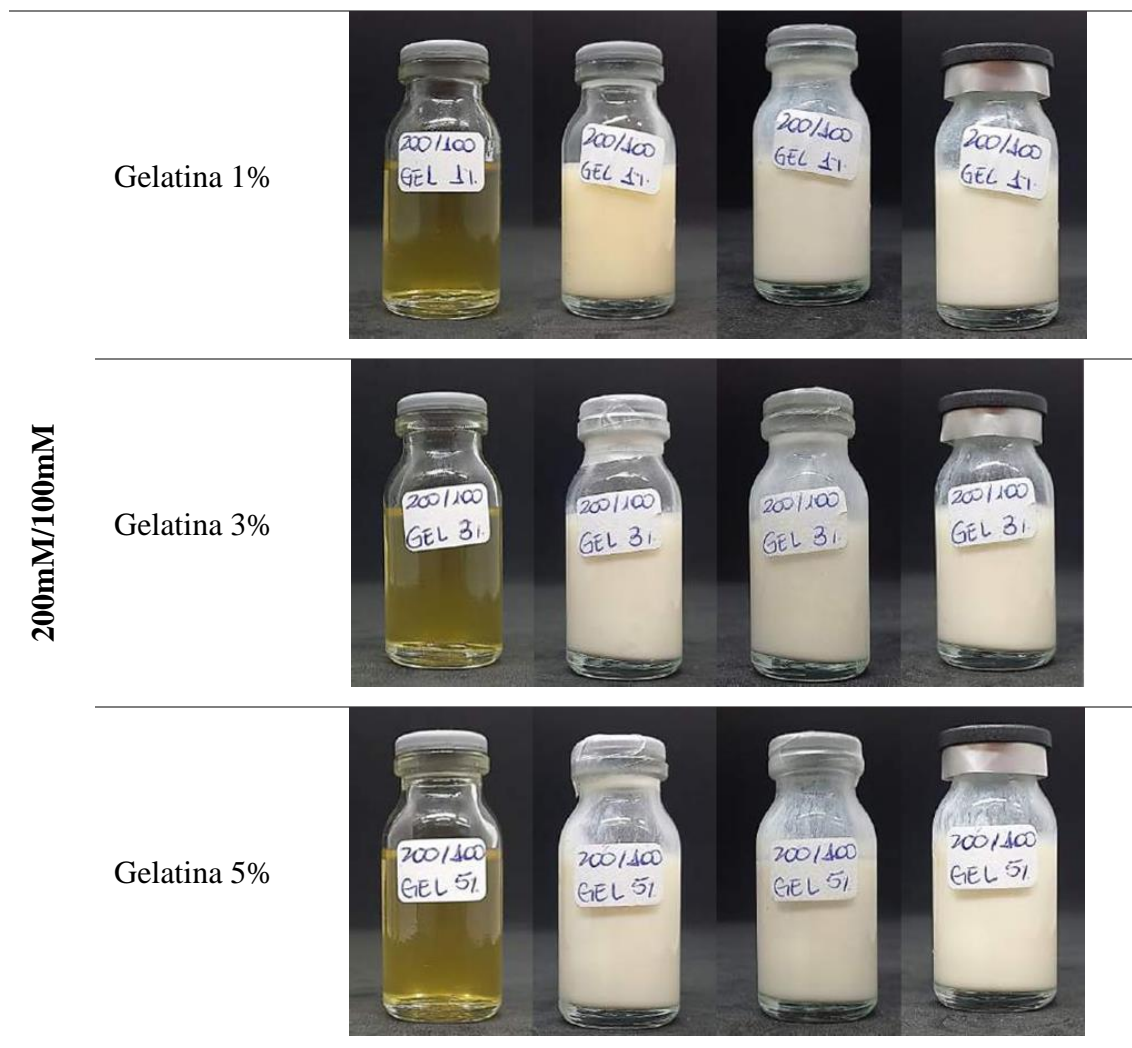


Fonte: Autoria própria.

Os mesmos processos podem ser observados na figura 23 contendo sistemas de 200mM/100mM com gelatina, com exceção que os sistemas com 3% e 5% se apresentam totalmente esbranquiçados após 24h. As diferenças observadas entre os dois sistemas (200mM/200mM e 200mM/100mM) podem ser atribuídas as diferentes interações e estabilidade das estruturas coloidais formadas, influenciadas pelas concentrações relativas de lecitina/NaDC, assim como foi evidente nos sistemas contendo pectina.

Figura 23: Características visuais dos sistemas de 200mM/100mM lecitina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

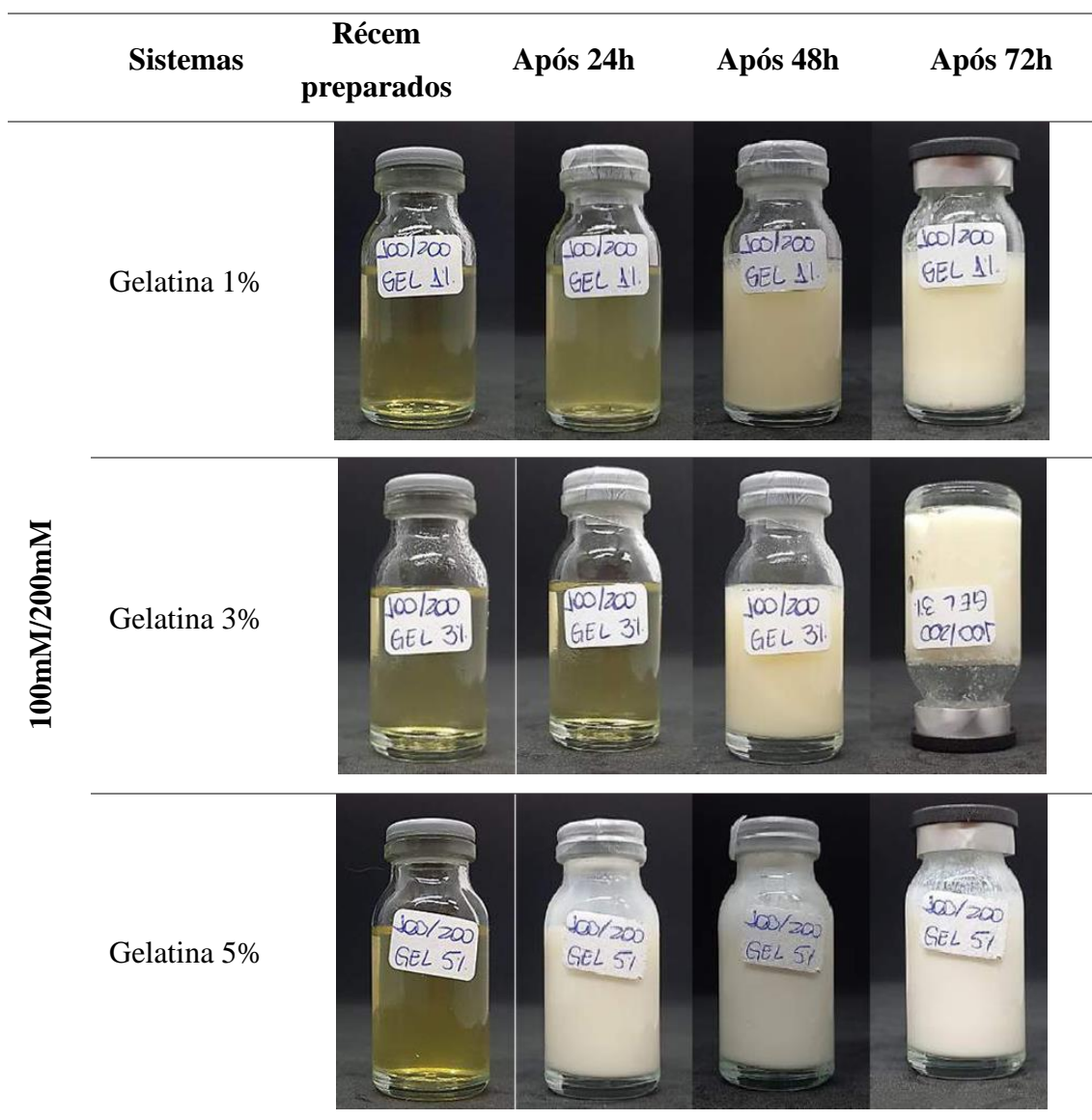
Sistemas	Récem preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h
----------	------------------	----------	----------	----------



Fonte: Autoria própria.

Para sistemas com concentrações mais baixas de lecitina (fig. 24), a intensidade amarelada é menor do que as vistas anteriormente em sistemas recém preparados e após 24h. Os sistemas só vão ficar completamente opacos e esbranquiçados após 72h. Essa diferença indica que a maior concentração de NaDC em relação a lecitina pode reduzir a tensão superficial e estabilizar as micelas de forma mais eficaz, acabando por retardar a agregação e o crescimento das partículas coloidais (que pode ser evidenciado pela análise de tamanho de partículas e PZ). Apenas o sistema com 3% de gelatina formou gel após 72 horas. Em concentrações mais baixas (1%), a quantidade de gelatina pode ser insuficiente para permitir a formação de interações intermoleculares suficientes para gerar um gel, já em concentrações mais altas (5%), a viscosidade da solução pode ser tão alta que a mobilidade das moléculas de gelatina fica restrita, impedindo a formação de uma rede de gel eficaz.

Figura 24: Características visuais dos sistemas de 100mM/200mM lectina/NaDC de gelatina (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.



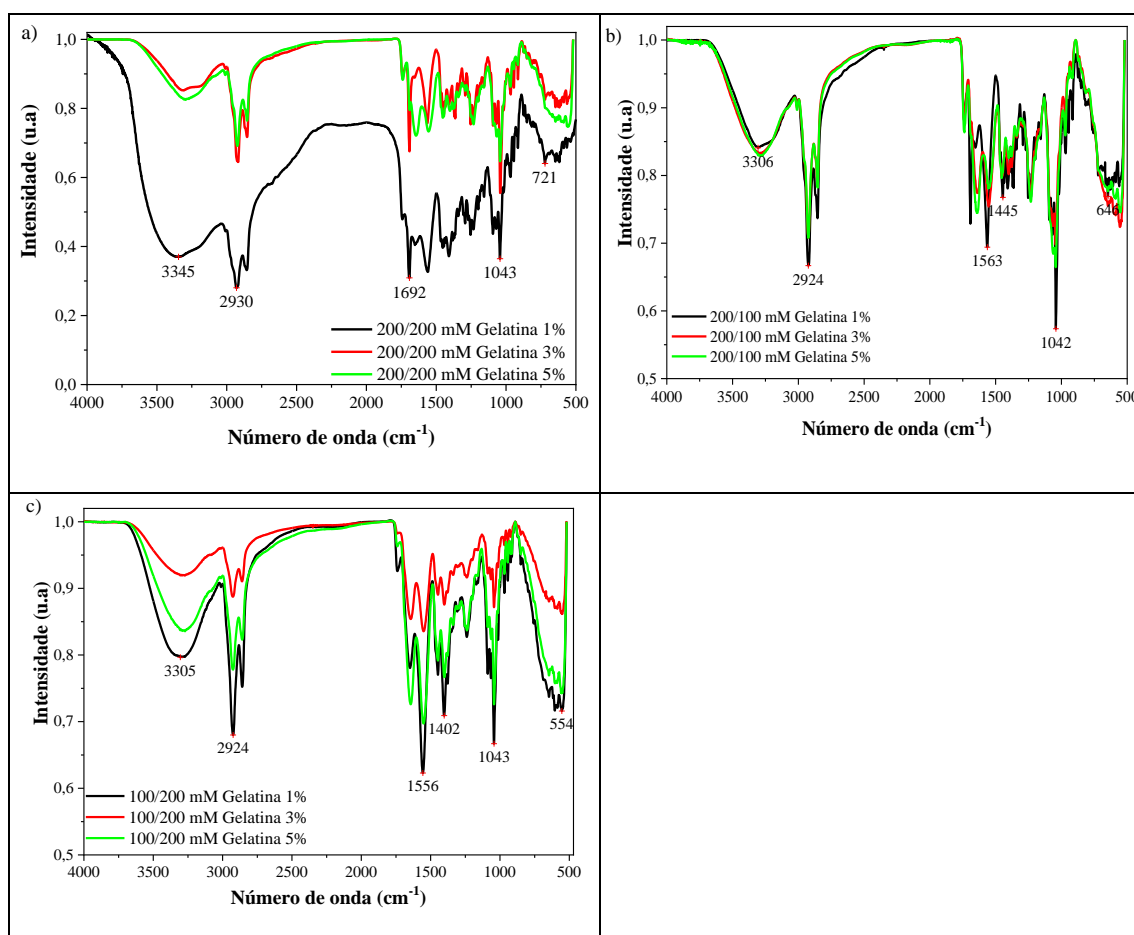
Fonte: Autoria própria.

A figura 25 mostra os espectros de FTIR para as amostras com gelatina. Na figura 25a com 200mM/200mM, a banda em  $721\text{ cm}^{-1}$  está relacionada a deformações fora do plano de grupos  $\text{CH}_2$  presentes na estrutura da gelatina e da lecitina (Purwar *et al.*, 2019; Choragudi *et al.*, 2021; Barani *et al.*, 2018). A banda em  $1043\text{ cm}^{-1}$  é atribuída as vibrações de estiramento C-O-C e C-OH que são comuns em proteínas e também podem ser influenciadas pela lecitina com grupos fosfato e colina (Barani *et al.*, 2018). A banda em  $1692\text{ cm}^{-1}$  representa o estiramento C=O (carbonila) de amidas (Amida I), típico da gelatina (Purwar *et al.*, 2019). Já em  $2930\text{ cm}^{-1}$  representa vibrações de estiramento C-H

provenientes tanto da gelatina quanto da lecitina, assim como os estiramentos O-H ou N-H nas bandas em  $3406\text{ cm}^{-1}$  e  $3445\text{ cm}^{-1}$  (Barani *et al.*, 2018).

No sistema 200mM/100mM não se observa deslocamento das bandas (Barani *et al.*, 2018). Já no sistema 100mM/200mM, são observados deslocamentos em bandas características, indicando que as interações envolvendo alguns grupos são mais impactadas pela alteração na proporção entre lecitina/NaDC, assim como pela variação da concentração de gelatina. Essas mudanças refletem reorganizações estruturais ou a formação de novas interações intermoleculares nesses sistemas (Purwar *et al.*, 2019; Choragudi *et al.*, 2021; Barani *et al.*, 2018).

Figura 25: Espectro de a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%.

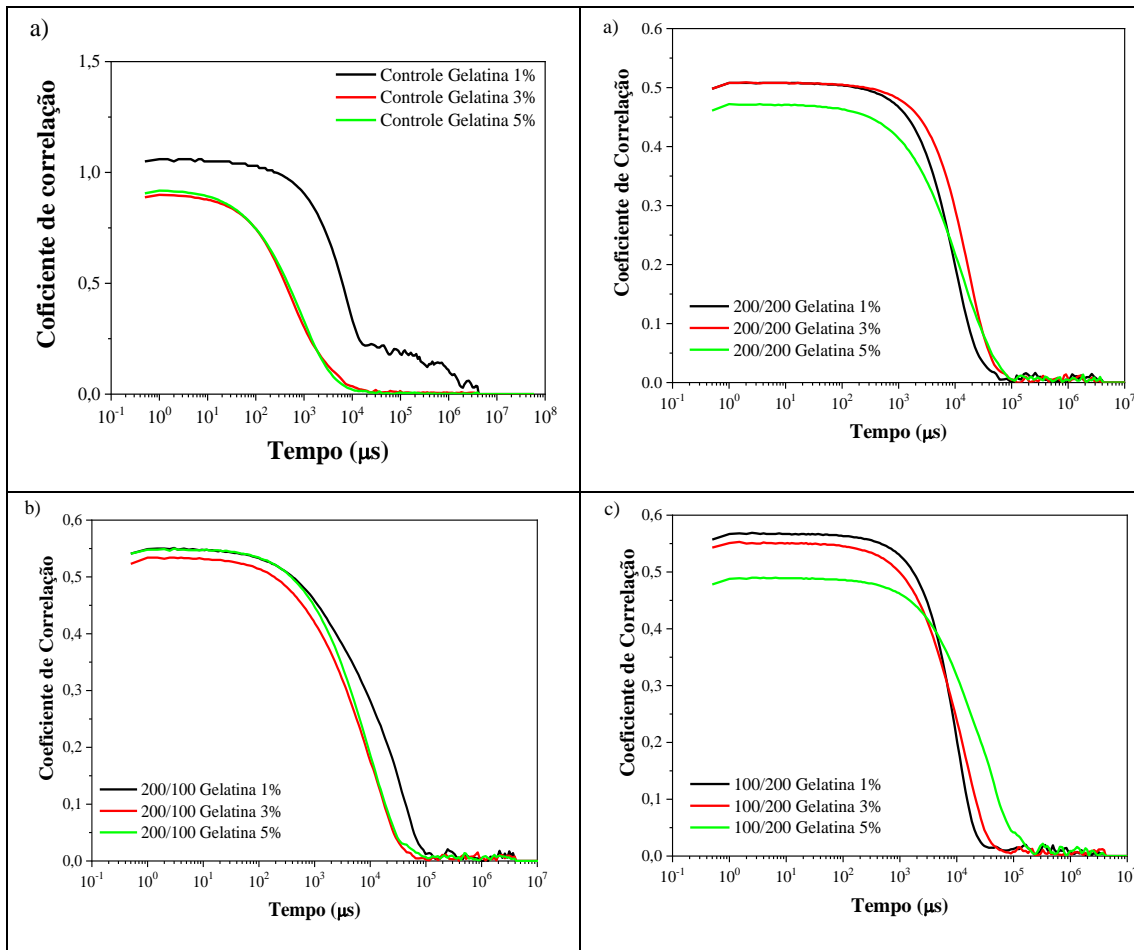


Fonte: Autoria própria.

No gráfico de função de correlação obtido por DLS para o sistema controle de gelatina nas concentrações de 1%, 3% e 5% (fig. 26), é possível analisar que os tempos

de decaimento das amostras com 3% e 5% são muito próximos, porém, o coeficiente de correlação é maior para a concentração de 5%. Esse comportamento sugere que, na concentração de 5%, o sistema apresenta maior homogeneidade (Matsunaga e Shibayama, 2007), devido a interações mais intensas entre as cadeias de gelatina, o que pode indicar uma rede polimérica mais robusta em comparação com a concentração de 3%. Por outro lado, o decaimento mais lento observado na amostra de 1% indica a presença de partículas maiores ou agregados no sistema, o que pode ser atribuído à menor quantidade de gelatina disponível para estabilizar as partículas ou às condições de menor viscosidade, favorecendo o crescimento de agregados maiores (Naso *et al.*, 2019).

Figura 26: Curva de correlação a) sistema 200mM/200mM, b) 200mM/100mM e c) 100mM/200mM de lecitina/NaDC contendo gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%.



Fonte: Autoria própria.

No sistema em que as concentrações de lecitina/NaDC são iguais (200mM/200mM), o decaimento mais rápido da função de correlação foi observado para

as amostras com 1% e 5% de gelatina, indicando partículas menores e mais rápidas. Já o sistema com 3% apresentou um decaimento mais lento, associado a partículas maiores. Esse comportamento pode ser explicado pela influência das concentrações relativas de gelatina no equilíbrio entre os surfactantes e o polímero (Naso *et al.*, 2019). Para 1%, a quantidade de gelatina pode ser insuficiente para induzir agregação significativa, resultando em partículas menores e para 5%, embora a concentração de gelatina seja maior, a saturação dos sítios de interação entre gelatina e surfactantes pode limitar a formação de agregados maiores. No caso de 3%, é possível que a concentração intermediária favoreça a formação de estruturas maiores devido a uma interação mais efetiva entre lecitina, NaDC e gelatina, maximizando a agregação.

Para o sistema 200mM/100mM, a redução da concentração de NaDC altera o equilíbrio entre os componentes, determinando um decaimento mais rápido para o sistema com 3% de gelatina, seguido pelo sistema com 1%. O sistema com 5% apresentou o decaimento mais lento, indicando partículas maiores. A diminuição da concentração de NaDC pode reduzir a formação de micelas mistas com a lecitina, afetando a estabilidade dos agregados (Misra *et al.*, 2016). No caso de 3% de gelatina, parece haver uma interação mais eficiente entre a gelatina e os surfactantes remanescentes, promovendo partículas menores e mais estáveis. Para 1%, a baixa concentração de gelatina pode limitar a agregação e o menor número de interações disponíveis também pode contribuir para partículas menores. No entanto, para 5%, o excesso de gelatina pode levar a uma sobreposição de polímeros, resultando em agregados maiores e menos dinâmicos.

No sistema com concentração reduzida de lecitina (100mM/200mM), o decaimento mais rápido foi observado nas amostras com 1% e 3% de gelatina, enquanto o sistema com 5% apresentou o decaimento mais lento. A redução da lecitina limita a formação de micelas e agregados, tornando o papel do NaDC mais proeminente (Misra *et al.*, 2016). Para 1% e 3%, a menor quantidade de lecitina pode favorecer a formação de partículas menores e mais rápidas, pois a interação com o NaDC e a gelatina ocorre de forma mais controlada (Matsunaga e Shibayama, 2007). Por outro lado, no sistema com 5% de gelatina, o excesso do polímero pode levar a uma agregação desordenada, resultando em partículas maiores e menos móveis.

A tabela 6 apresenta valores de PZ para diferentes concentrações de lecitina, NaDC e gelatina. No sistema controle de gelatina, os valores variam de -11,5 mV (gelatina 1%) a -3,15 mV (gelatina 5%), indicando que a tendência de aumento do PZ (menos negativo) em relação a concentração de gelatina pode ser devido à maior quantidade de proteína

que, dependendo do pH, pode neutralizar parcialmente a carga negativa (Hou *et al.*, 2019). As formulações de concentrações iguais de NaDC e lecitina (200mM/200mM) apresentam valores mais negativos, indicando que essas interações maximizam a carga negativa na superfície das partículas (Hou *et al.*, 2019), provavelmente devido à formação de complexos estáveis entre NaDC e lecitina que são carregados negativamente. Nas formulações com 200mM/100mM e 100mM/200mM, os valores são intermediários, sugerindo que a quantidade relativa de NaDC e lecitina influencia a magnitude da carga negativa.

Tabela 6: Valores de PZ para sistemas de lecitina/NaDC contendo gelatina

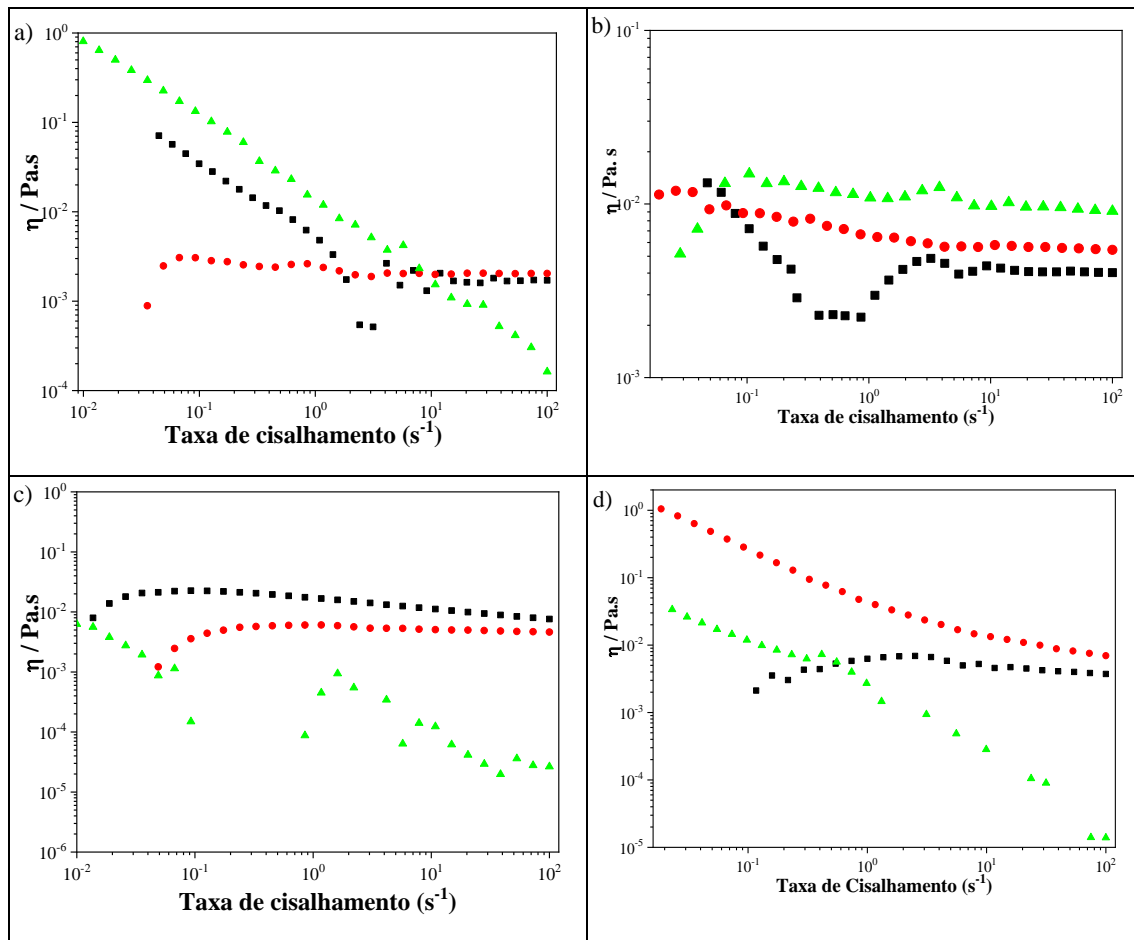
	<b>Gelatina 1%</b>	<b>Gelatina 3%</b>	<b>Gelatina 5%</b>
	-11,5± 3,31 <sup>abc</sup>	-7,14± 5,57 <sup>a</sup>	-3,15± 3,32 <sup>a</sup>
<b>200mM/200mM</b>	-34,7±10,2 <sup>ef</sup>	-28,2±10,4 <sup>bcdef</sup>	-22,7±7,34 <sup>abcdef</sup>
<b>200mM/100mM</b>	-36,1±10,6 <sup>f</sup>	-31,70±10,7 <sup>cdef</sup>	-33,20±9,29 <sup>def</sup>
<b>100mM/200mM</b>	-30,2±5,6 <sup>cdef</sup>	-21,4±9,9 <sup>abcdef</sup>	-19,3±8,22 <sup>abcdef</sup>

*Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.*

Fonte: Autoria própria.

Os ensaios reológicos apresentados na Figura 27 mostram as curvas de fluxo de soluções de gelatina de 1%, 3% e 5%, comparando sistemas controle e sistemas contendo lecitina/NaDC em diferentes proporções (200mM/200mM, 200mM/100mM e 100mM/200mM). No sistema controle, a gelatina a 1% apresenta *shear thinning*. Em 3%, a viscosidade apresenta um comportamento mais linear em relação à taxa de cisalhamento, o que sugere uma resistência quase constante ao fluxo em boa parte do intervalo analisado, podendo ser explicado pelas características estruturais e moleculares do sistema nessa concentração intermediária, que resultam em um equilíbrio entre os mecanismos de interação e a deformação provocada pelo cisalhamento (Huang *et al.*, 2017). Enquanto a 5% o *shear thinning* é mais acentuado, com viscosidade inicial elevada devido as cadeias de gelatina estarem em proximidade suficiente para formar interações mais intensas e persistentes, como zonas de associação estabilizadas por interações hidrofóbicas e ligações cruzadas (Gordievskaya *et al.*, 2016).

Figura 27: Ensaios reológicos Curva de fluxo *a)* controle de gelatina, *b)* 200mM/200mM, *c)* 200mM/100mM e *d)* 100mM/200mM de gelatina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

Fonte: Autoria própria.

No sistema 200mM/200mM, o comportamento reológico em 3% é muito semelhante ao do controle, indicando que, nesta concentração intermediária, a presença de lecitina/NaDC não altera significativamente as propriedades estruturais do sistema (Edwards *et al.*, 2002). Já em 1%, ocorre *shear thinning* seguido por *shear thickening* em  $\dot{\gamma} \sim 10 \text{ s}^{-1}$ , sugere reorientações estruturais sob cisalhamento. Em 5%, o comportamento *shear thickening* acentuado sugere uma rede tridimensional densa que aumenta a resistência ao fluxo em altas taxas de cisalhamento, devido a rearranjos estruturais promovidos pelo movimento relativo das moléculas de gelatina e micelas (Denn *et al.*, 2018; Huang e Sorensen, 1996; Hone *et al.*, 2000).

No sistema 200mM/100mM, a curva de fluxo em 1% é semelhante à de 3%, contudo, a viscosidade inicial de 1% é mais alta em todas as concentrações. O leve

aumento na viscosidade em baixas taxas de cisalhamento podem ser atribuído à interação inicial entre a gelatina e as micelas formadas pelo sistema lecitina/NaDC, resultando em um rearranjo estrutural e em concentrações mais baixas, essas interações são menos intensas, permitindo que o sistema estabilize rapidamente em uma viscosidade constante (Denn *et al.*, 2018; Hone *et al.*, 2000). No sistema com 5% de inicialmente a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, devido ao rompimento parcial de redes estruturais e em seguida, ocorre um aumento da viscosidade, sugerindo que, sob essas condições, as moléculas de gelatina podem estar se reorganizando ou formando interações secundárias, como estruturas orientadas ou agregados temporários, que aumentam a resistência ao fluxo (Denn *et al.*, 2018). Em taxas mais altas, ocorre uma nova redução na viscosidade, indicando o rompimento completo dessas estruturas reorganizadas, retornando ao comportamento típico de *shear thinning*.

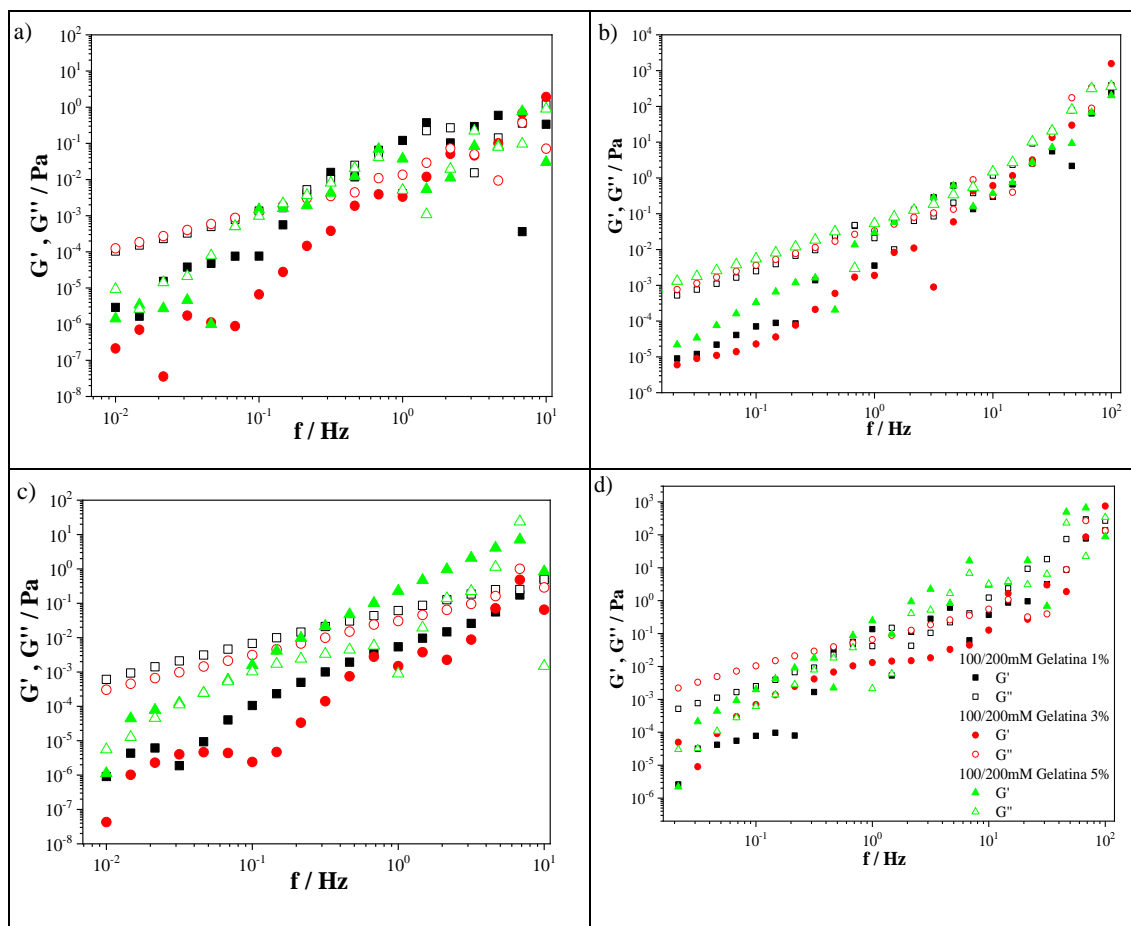
No sistema 100mM/200mM, a viscosidade inicial em 3% é significativamente maior que nas outras concentrações, provavelmente devido a uma maior eficiência das interações entre gelatina e as micelas formadas em um regime de lecitina/NaDC desbalanceado. Essa interação intensificada pode gerar redes estruturais transitórias mais resistentes (Denn *et al.*, 2018; Hone *et al.*, 2000). Em 5%, o comportamento é próximo ao observado nos sistemas 200mM/100mM, com *shear thinning* acentuado, refletindo a quebra progressiva de estruturas sob cisalhamento e em altas taxas de cisalhamento, as estruturas começam a apresentar novamente um rompimento (Gandola *et al.*, 2020; Elnaggar *et al.*, 2014).

A análise reológica de varredura dinâmica frequência estão apresentados figura 28. No sistema controle, em 1%, os módulos estão próximo, levando a um comportamento viscoso ( $G'' > G'$ ) em baixas faixas de frequências e à medida que a frequência aumenta, ocorre um ponto de *crossover* em 0,5 Hz, em que  $G'$  se iguala a  $G''$ , marcando a transição para um comportamento mais elástico. Esse comportamento é característico devido as interações entre as cadeias de gelatina serem limitadas pela baixa densidade de ligações intermoleculares (Nommensen *et al.*, 2001). Com 3%, o sistema mantém o predomínio de  $G''$ , porém, com maior dissipação de energia, indicando que a gelatina, embora mais concentrada, ainda não consegue gerar uma estrutura com forte resposta elástica. Em 5%, os módulos  $G'$  e  $G''$  se cruzam várias vezes, indicando que a gelatina está gerando uma rede mais dinâmica, com a capacidade de se ajustar às forças aplicadas, só que ainda sem uma estrutura completamente rígida.

No sistema 200mM/200mM, para 1% de gelatina, o sistema exibe um comportamento viscoso ( $G'' > G'$ ) em baixas frequências, com um *crossover* em torno de 2 Hz que marca uma transição para comportamento elástico. No entanto, em frequências mais altas,  $G''$  volta a superar  $G'$ , indicando uma predominância viscosa, possivelmente associada à reorganização limitada das cadeias em resposta à aplicação de forças rápidas. Em 3%, um padrão semelhante é observado. Já em 5%, o comportamento é majoritariamente viscoso, com  $G''$  predominante em quase toda a faixa analisada, embora, transições momentâneas sugiram reorganizações pontuais na rede tridimensional (Liu *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2016).

Nos sistemas 200mM/100mM em 1% e 3%, o comportamento é predominantemente viscoso ( $G'' > G'$ ) em toda a faixa de frequências, indicando que as interações intermoleculares são insuficientes para estabilizar uma rede tridimensional estruturada (Guo *et al.*, 2016). O mesmo é observado no sistema 100mM/200mM, em 1% e 3%, ocorrem transições para comportamento elástico em frequências intermediárias, seguidas de retorno à predominância viscosa em altas frequências. Para 5%, em ambos os sistemas é observado um comportamento elástico ( $G' > G''$ ) em baixas frequências, seguido por uma sobreposição dos módulos em frequências intermediárias, onde  $G''$  ultrapassa  $G'$  em 10 Hz, e, em frequências mais altas, um retorno à predominância elástica. Essa transição indica que, em concentrações mais altas de gelatina, as cadeias poliméricas conseguem formar redes coesas, embora, ainda sejam parcialmente afetadas pela presença de surfactantes, que modulam a coesão e a resposta estrutural (Liu *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2016).

Figura 28: Ensaios reológicos varredura de frequências a) controle de gelatina, b) 200mM/200mM, c) 200mM/100mM e d) 100mM/200mM de gelatina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

Fonte: Autoria própria.

### 3.3 Sistemas contendo fármaco MDZ

O desenvolvimento da plataforma de encapsulação e liberação do fármaco foi determinada através do sistema 100mM/200mM de lecitina/NaDC. A escolha deste sistema de encapsulação e liberação controlada de fármacos é justificada pela combinação otimizada das propriedades de formação de gel, estabilidade coloidal e características reológicas ajustáveis. O potencial de liberação controlada e prolongada, associado à estabilidade e ao controle sobre a taxa de liberação do fármaco, posiciona esse sistema como uma plataforma promissora para a administração de fármacos. A estabilidade física, juntamente com as propriedades reológicas favoráveis, torna esse sistema ideal para aplicação em diversas formas farmacêuticas.

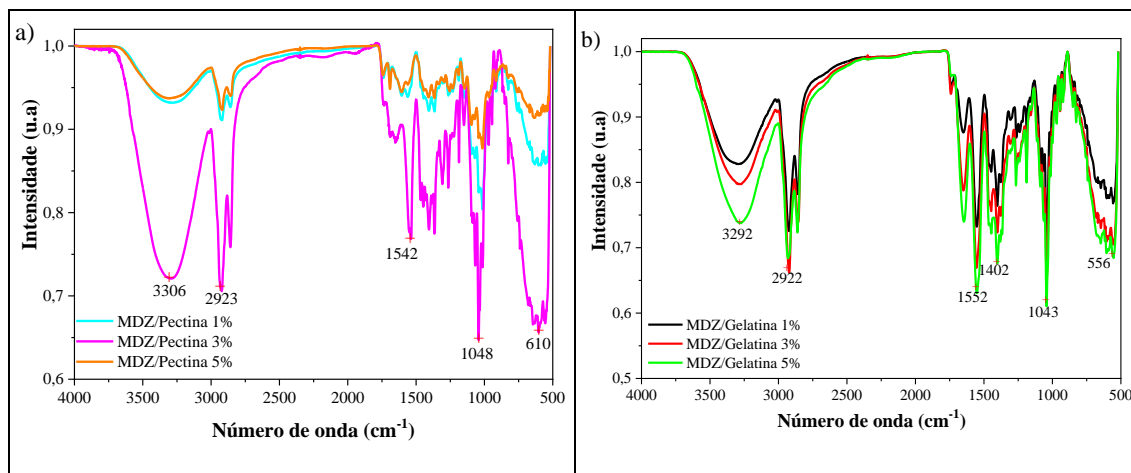
Os gráficos apresentados na figura 29 mostram espectros de FTIR para sistemas contendo diferentes concentrações de pectina (1%, 3% e 5%) e gelatina (1%, 3% e 5%), ambos associados a lecitina/NaDC e metronidazol. No sistema contendo pectina, a banda em  $3306\text{ cm}^{-1}$  é associada ao estiramento de O-H, característico de grupos hidroxila

presentes na estrutura polissacarídica da pectina. A banda em  $2923\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento de C-H e em  $1542\text{ cm}^{-1}$  a banda é atribuída à vibração assimétrica do grupo carboxilato ( $\text{COO}^-$ ), típico em polissacarídeos. Já a banda em  $1045\text{ cm}^{-1}$  é consistente com a presença do grupo nitro no metronidazol, ou podem representar estiramentos C-O de ésteres, associados a lecitina ou pectina (Nugrahani e Aliah, 2019; Zhang *et al.*, 2012).

Por outro lado, no sistema contendo gelatina, a bandas em  $3292\text{ cm}^{-1}$ , é atribuída ao estiramento de N-H de amidas, típicas da estrutura proteica da gelatina. Em,  $1542\text{ cm}^{-1}$ , a banda correspondente à vibração de deformação N-H (banda de amida II) e em  $1045\text{ cm}^{-1}$ , é referente ao estiramento C-N das amidas. Já a banda em  $536\text{ cm}^{-1}$ , está possivelmente relacionada a interações intermoleculares específicas ou reorganizações estruturais (Purwar *et al.*, 2019; Choragudi *et al.*, 2021; Barani *et al.*, 2018).

Ao comparar os dois sistemas, é visível que a pectina, por ser um polissacarídeo, apresenta maior sensibilidade a rearranjos estruturais e interações intermoleculares, o que resulta em deslocamentos mais expressivos das bandas, particularmente na concentração intermediária de 3%. Já a gelatina, devido à sua estrutura proteica e estabilidade, mostra espectros mais consistentes entre as diferentes concentrações. Essa diferença reflete as propriedades químicas e estruturais dos dois polímeros, uma vez que, enquanto a pectina é mais flexível e altamente influenciada pelas condições de interação com outros componentes, a gelatina mantém uma organização molecular mais uniforme, independentemente da concentração (Nugrahani e Aliah, 2019; Barani *et al.*, 2018).

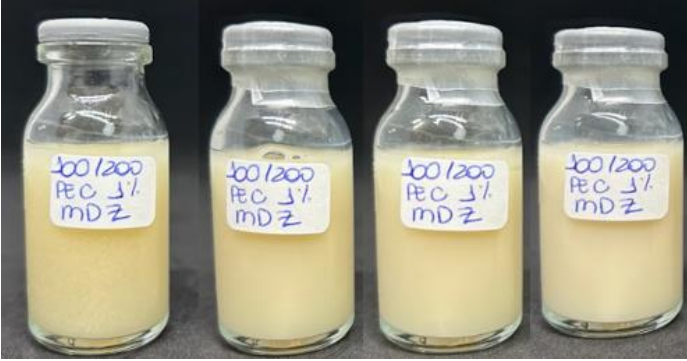

Figura 29: Espectro de a) 100mM/200mM contendo pectina/MDZ (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%; e b) gelatina/MDZ (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%.



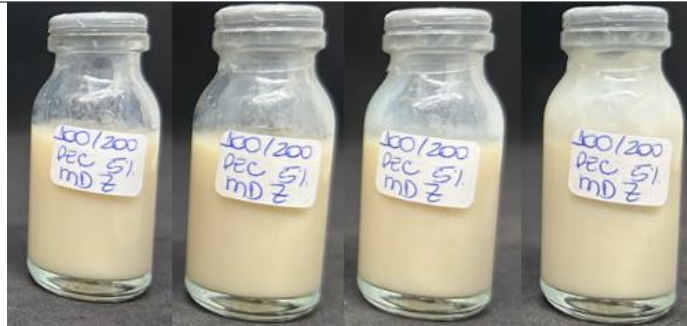
Fonte: Aatoria própria.

A figura 30 mostra as fotos dos sistemas de lecitina/NaDC 100mM/200mM com pectina e com a adição do fármaco MDZ. É bem conhecido que os lipossomas (presente na lecitina) são instáveis e podem formar agregados com o tempo, porém, a gelificação pode melhorar a estabilidade juntamente com a modificação da cinética para liberação do fármaco (Aggarwal e Nagpal, 2018). Contudo, a ausência de formação de gel nos sistemas, mesmo após 72 horas na presença do fármaco pode ser atribuída a interferência nas interações moleculares envolvendo a pectina. O MDZ, ao ser introduzido na solução, pode interagir diretamente com as moléculas presentes, impedindo a formação das ligações cruzadas entre as moléculas de pectina que são essenciais para a estrutura tridimensional do gel. Além disso, o fármaco pode modificar as propriedades físico-químicas da solução, como o pH, a força iônica e a polaridade, criando um ambiente desfavorável e inibindo a formação de gel em todo o sistema (Junmahasathien *et al.*, 2018; Aggarwal e Nagpal, 2018).

Figura 30: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lecitina/NaDC de pectina/MDZ (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h

	Sistemas	Recém Preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h
100mM/200mM	Pectina/MDZ 1%				
	Pectina/MDZ 3%				





Pectina/MDZ  
5%



Fonte: Autoria própria.

Os sistemas de gelatina contendo MDZ vistos na figura 31 se apresentam translúcidos e amarelados, indicando que possivelmente a presença do fármaco aumentou a estabilidade dos sistemas comparado com o sistema sem fármaco. O sistema com 5% de gelatina apresenta uma leve turbidez esbranquiçada após 72h enquanto nas demais concentrações a aparência continua a mesma. Todos os sistemas se tornaram totalmente brancos e opacos em tempos maiores que 72h, indicando a formação de uma solução coloidal.

Figura 31: Características visuais dos sistemas de 200mM/200mM lectina/NaDC de gelatina/MDZ (1%, 3% e 5%) recém preparados, após 24h, 48h e 72h.

Sistemas	Recém preparados	Após 24h	Após 48h	Após 72h
100mM/200mM Gelatina/MDZ 1%				

---

Gelatina/MDZ  
3%



---

Gelatina/MDZ  
5%



---

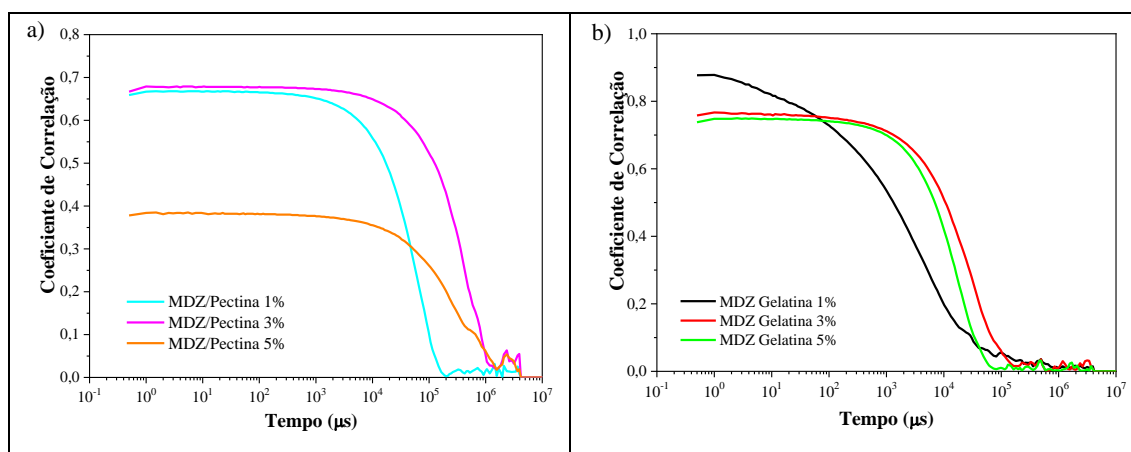
Fonte: Autoria própria.

No sistema contendo pectina e MDZ, a análise do gráfico de correlação (fig. 32a) obtido por DLS revelou que as curvas de decaimento foram mais rápidas para as concentrações de pectina de 1% e 3%, que pode ser atribuído à menor formação de redes ou agregados pela pectina em concentrações mais baixas, permitindo a formação de partículas com alta mobilidade (Junmahasathien *et al.*, 2018). A interação entre o metronidazol e a pectina parece ser mais eficiente nessas concentrações, encapsulando o fármaco em partículas menores. Por outro lado, para a concentração de 5%, o decaimento da curva foi mais lento. Essa diferença se explica pelo aumento da viscosidade do sistema e pela tendência da pectina, em concentrações elevadas, de formar redes poliméricas mais densas, que restringem a mobilidade das partículas (Huang *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2009).

No sistema contendo gelatina e metronidazol, o comportamento foi diferente. O decaimento mais rápido ocorreu para a concentração de 1%, indicando partículas pequenas e com alta mobilidade. Na concentração intermediária de 3% de gelatina, o decaimento mais lento sugere a formação de partículas maiores e menos móveis, que pode ser atribuído à maior disponibilidade de moléculas de gelatina, que, ao interagir entre si e com o metronidazol, promovem a formação de estruturas mais densas ou agregados (Matsunaga e Shibayama, 2007). Por outro lado, na concentração de 5% de gelatina, o decaimento da curva foi mais rápido do que comparação a 3%. Esse comportamento pode

ser explicado pela saturação do sistema, limitando a interação entre cadeias individuais e reduzindo a formação de estruturas extensas, favorecendo partículas menores e mais discretas.

Figura 32: Curva de correlação dos sistemas 100mM/200mM de a) pectina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5% e b) gelatina (-) 1%; (-) 3%; (-) 5%.



Fonte: Autoria própria.

Os valores de PZ apresentados na tabela 7 refletem a estabilidade coloidal de sistemas de 100mM/200mM, associados ao fármaco MDZ e diferentes proporções de pectina e gelatina (1%, 3% e 5%). Nos sistemas contendo pectina, o PZ dos sistemas com 1% e 5% se apresentaram muito próximos (-9,96 mV e -9,98 mV, respectivamente). A concentração de 3% estabeleceu maior magnitude em PZ (-11,3 mV), sugerindo que nessa concentração a pectina interage de forma mais efetiva com o metronidazol e os outros componentes, gerando uma maior estabilidade do sistema. Nos sistemas contendo gelatina, os valores de PZ foram mais negativos. Com o aumento da concentração de gelatina, o valor absoluto do PZ aumenta, indicando uma maior carga negativa superficial no sistema, sugerindo que a gelatina também tem maior capacidade de interagir com o metronidazol e com os componentes lipídicos (Mukherjee *et al.*, 2016).

A presença do metronidazol nos sistemas influencia diretamente a carga superficial, uma vez que o fármaco pode se associar às micelas formadas pela lecitina e o sal biliar, modulando as interações com os polímeros (Clogston e Patri, 2011; Mukherjee *et al.*, 2016). O comportamento do PZ nos diferentes sistemas demonstra que tanto a composição quanto a concentração dos polímeros impactam as interações entre os

componentes, afetando a estabilidade coloidal e, conseqüentemente, o potencial para liberação controlada do metronidazol.

Tabela 7: Valores de PZ para sistemas contendo pectina/MDZ e gelatina/MDZ

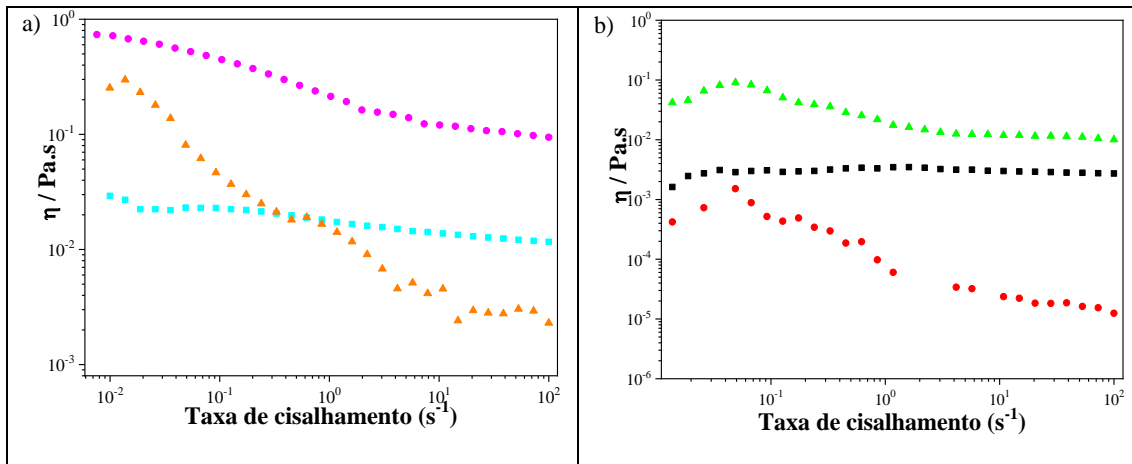
	<b>Pectina 1%</b>	<b>Pectina 3%</b>	<b>Pectina 5%</b>
<b>100mM/200mM MDZ</b>	-9,96±0,78 <sup>abcd</sup>	-11,3±0,88 <sup>abc</sup>	-9,98±2,87 <sup>abcde</sup>
	<b>Gelatina 1%</b>	<b>Gelatina 3%</b>	<b>Gelatina 5%</b>
<b>100mM/200mM MDZ</b>	-13,7±1,5 <sup>abcd</sup>	-15,2±2,2 <sup>abcde</sup>	-18,1±2,5 <sup>abcdef</sup>

*Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.*

Fonte: A autoria própria.

Os resultados reológicos da curva de fluxo dos sistemas com MDZ podem ser vistos na figura 33. Nos sistemas com pectina, sem MDZ, foi discutido anteriormente a exibição de um padrão de afinamento por cisalhamento em todas as concentrações (1%, 3% e 5%), com a viscosidade inicial aumentando proporcionalmente à concentração de pectina. No entanto, quando o MDZ é adicionado, o comportamento muda e o sistema com 3% apresenta a maior viscosidade inicial, enquanto em 5% ocorre uma redução relativa, sugerindo que o MDZ, por meio de interações específicas, modifica a estrutura da matriz (Mohammed e Mohammed, 2009; Nommensen *et al.*, 2001). Em 3%, a concentração intermediária favorece a interação do MDZ com o complexo pectina-lecitina/NaDC, estabilizando a rede e aumentando a viscosidade inicial. Já em 5%, onde as interações intrínsecas da pectina predominam devido à alta concentração e o MDZ passa a competir por ligações, desestabilizando parcialmente a matriz e reduzindo a viscosidade inicial esperada.

Figura 33: Ensaio reológico de Curva de fluxo de a) pectina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%; e b) gelatina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$ .

Fonte: Autoria própria.

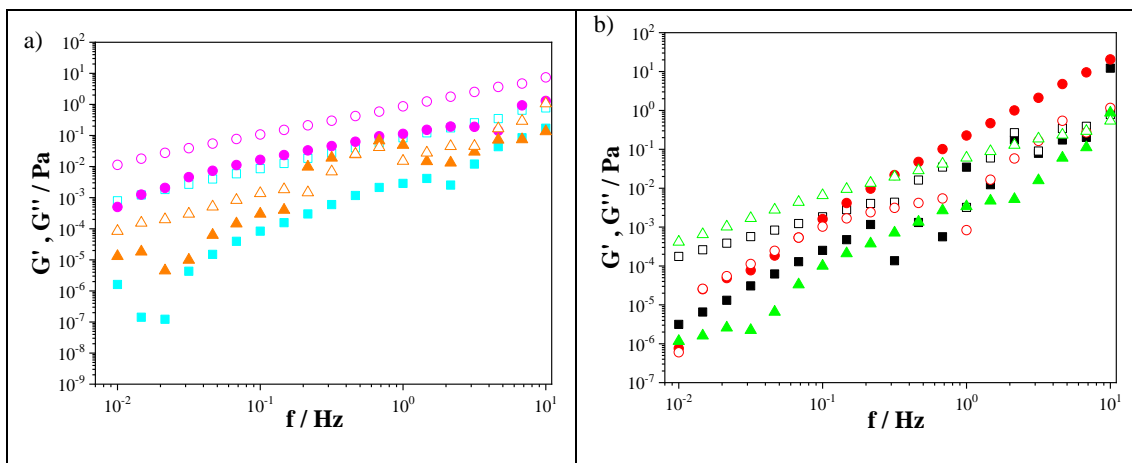
Nos sistemas com gelatina, o comportamento reológico sem o MDZ é similar ao observado com o fármaco. Com a adição de MDZ, em 1%, a viscosidade apresenta comportamento quase constante, indicando que as interações intramoleculares são pouco significativas para alterar o fluxo. No sistema com 3%, o aumento inicial da viscosidade sob cisalhamento reflete um fenômeno de *shear thickening*, que pode ser relacionado ao alinhamento ou compactação de cadeias proteicas sob cisalhamento, favorecendo contatos intermoleculares mais fortes antes da quebra estrutural que ocorre em altas taxas de cisalhamento (Yang *et al.*, 2016; Czerner *et al.*, 2013). Para 5%, a viscosidade inicial é ainda maior e o afinamento por cisalhamento ocorre de forma mais gradual, sugerindo que a gelatina, em concentração elevada, responde ao cisalhamento com uma menor ruptura das associações intermoleculares.

Comparando os sistemas de pectina e gelatina, é notável que a pectina é mais sensível à presença do MDZ e isso pode ser atribuído à natureza das interações predominantes em cada sistema. A pectina, sendo um polissacarídeo aniônico, depende fortemente de interações eletrostáticas com o complexo lecitina/NaDC, que são significativamente influenciadas pelo MDZ (Junmahasathien *et al.*, 2018; Aggarwal e Nagpal, 2018). Já a gelatina, devido à sua natureza proteica e propriedades anfifílicas, apresenta interações mais diversificadas, tornando o sistema mais robusto às mudanças causadas pelo fármaco. Nos sistemas de pectina com MDZ, o fármaco atua como um modulador estrutural, alterando a organização da matriz, especialmente em concentrações intermediárias e nos sistemas com gelatina, o MDZ favorece as interações intermoleculares em altas concentrações (Junmahasathien *et al.*, 2018).

Os resultados do ensaio reológico de varredura dinâmica de frequência para sistemas contendo lecitina, NaDC, pectina, gelatina e metronidazol estão na figura 34. Nos sistemas com pectina, na concentração de 1% de concentração  $G''$  é maior que  $G'$  em toda a faixa de frequência, embora  $G'$  se aproxime de  $G''$  em frequências altas. No sistema com 3% de pectina,  $G''$  permanece maior que  $G'$  em toda a faixa de frequência, o que sugere que, apesar do aumento na concentração, a rede formada ainda é dominada por características viscosas, sem transição para um comportamento mais elástico. Para o sistema com 5% de pectina,  $G''$  se apresenta maior que  $G'$  na maior parte da faixa de frequência, e há uma inversão em frequências intermediárias com  $G'$  superando  $G''$  em 0,5 Hz, indicando que a rede estrutural formada começa a apresentar características elásticas significativas. No entanto, em frequências mais altas,  $G''$  volta a predominar, sugerindo que a rede não é suficientemente rígida para resistir à deformação extrema, retornando ao comportamento viscoso.

Nos sistemas com gelatina, com 1% de gelatina,  $G''$  também é maior que  $G'$ , porém, em frequências altas,  $G'$  se aproxima de  $G''$ . Esse padrão é semelhante ao da pectina em baixa concentração, indicando que a gelatina também apresenta um comportamento viscoso predominante quando em baixas concentrações, embora a aproximação de  $G'$  e  $G''$  em altas frequências sugira o início da formação de uma estrutura mais coesa. No sistema com 3% de gelatina,  $G''$  é maior que  $G'$  em baixas frequências e  $G'$  logo supera  $G''$  com o aumento da frequência. Para o sistema com 5% de gelatina,  $G''$  é maior que  $G'$  em quase toda a faixa de frequência analisada

Figura 34: Ensaio reológico de varredura dinâmica de frequência de a) pectina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%; e b) gelatina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



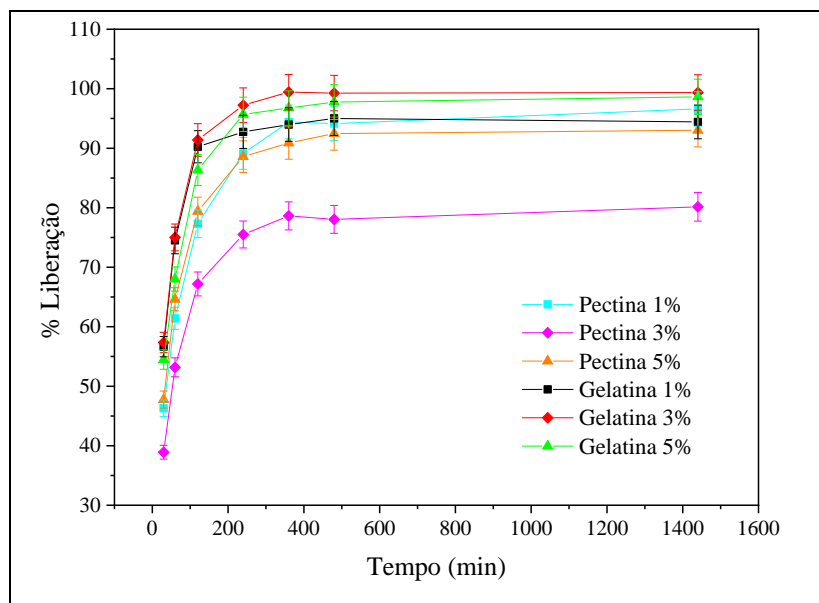
\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$ .

Fonte: Aatoria própria.

### 3.4 Análises de liberação das drogas nos sistemas

No gráfico apresentado na figura 35, é possível observar a porcentagem de liberação do fármaco ao longo do tempo, para formulações com pectina e gelatina em diferentes concentrações. A pectina a 3% apresenta uma liberação inicial mais rápida do que as demais formulações, atingindo um platô antes de alcançar a total liberação do fármaco, que pode ser explicado pelo equilíbrio entre a porosidade e a capacidade de retenção de água da pectina nessa concentração. Durante os primeiros minutos, a matriz absorve água rapidamente, permitindo uma difusão acelerada do fármaco. Contudo, à medida que a hidratação progride, ocorre um intumescimento que pode resultar no fechamento parcial de poros na estrutura limitando a difusão (Junmahasathien *et al.*, 2018).

Figura 35: Curva de liberação do fármaco.



Fonte: Aatoria Própria.

Nas formulações com pectina a 1% e 5% e gelatina a 1%, a liberação do fármaco também não alcança a totalidade do princípio ativo. No caso da pectina a 1%, a quantidade reduzida do polímero não oferece condições ideais para manter um fluxo contínuo das moléculas, o que acaba interrompendo o processo de liberação antes que ele seja completo. Já na pectina a 5%, a maior concentração do componente resulta em interações moleculares mais intensas, que atrapalham o desprendimento e a migração do fármaco, retardando sua liberação. A gelatina a 1% segue um padrão semelhante, possivelmente

devido à maneira como as moléculas se organizam no meio, estabelecendo barreiras que impedem a difusão integral do fármaco (Junmahasathien *et al.*, 2018; Vaidya *et al.*, 2009).

Em contraste, as formulações com gelatina a 3% e 5% demonstram a capacidade de liberar quase 100% do fármaco. Na gelatina a 3%, as condições internas favorecem uma dinâmica que permite tanto a incorporação quanto a liberação eficiente do princípio ativo, promovendo uma disponibilização quase completa ao longo do tempo. Já na gelatina a 5%, embora a liberação também seja alta, a maior concentração pode ocasionar interações adicionais que, embora sutis, retardam ligeiramente o processo de liberação, fazendo com que essa formulação apresente um desempenho um pouco inferior ao da gelatina a 3% em termos de porcentagem final do fármaco liberado (Phadke *et al.*, 2014; Sallam *et al.*, 2015)

O fato de as formulações continuarem a liberar o fármaco até cerca de 400 minutos antes de atingir o platô, é indicativo de um perfil prolongado e gradual, característico de sistemas de liberação controlada. Esse comportamento sugere que o sistema é capaz de manter uma liberação contínua do medicamento, o que pode ser vantajoso para aplicações terapêuticas que necessitam de níveis estáveis no organismo por períodos extensos (Sallam *et al.*, 2015).

### 3.4.1 Análises das cinéticas de liberação

Na tabela 8 estão os valores obtidos para os parâmetros cinéticos de liberação da droga segundo os modelos propostos: ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas discutidos anteriormente.

Tabela 8: Parâmetros propostos para análise da cinética de liberação.

Modelo	Parâmetros	Pectina	Pectina	Pectina	Gelatina	Gelatina	Gelatina
		1%	3%	5%	1%	3%	5%
Ordem Zero	$R^2$	0,40	0,36	0,35	0,25	0,29	0,33
	$K_0$	$2,5 \times 10^{-2}$	$1,9 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-2}$	$1,5 \times 10^{-2}$	$1,8 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-2}$
Primeira ordem	$R^2$	0,62	0,44	0,5	0,34	0,46	0,60
	$K_1$	$1,7 \times 10^{-3}$	$5,9 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-3}$	$9,9 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-3}$	$2,1 \times 10^{-3}$
Higuchi	$R^2$	0,63	0,60	0,35	0,45	0,50	0,55
	$K_H$	1,40	1,09	$2,0 \times 10^{-2}$	0,90	1,04	1,18

<b>Korsmeyer- Peppas</b>	<b>N</b>	0,19	0,18	0,26	0,33	0,25	0,29
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,97	0,80	0,93	0,98	0,94	0,98
	<b>K<sub>K-P</sub></b>	1,20	1,16	1,12	1,06	1,17	1,13

Fonte: Autoria própria.

O modelo de Korsmeyer-Peppas, mostra os mais altos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para todas as formulações, o que reforça a hipótese de que o mecanismo de liberação envolve, predominantemente, a difusão do fármaco através da matriz, com possíveis contribuições de outros processos, como a reorganização interna da estrutura. Na tabela, o valor do expoente (representado por “n”) revela a natureza do mecanismo de liberação, a qual os valores inferiores a 0,5 são indicativos de um processo predominantemente Fickiano, isto é, dominado pela difusão (Sallam *et al.*, 2015). Além disso, as constantes cinéticas (representadas por K) associadas a cada modelo oferecem uma medida da rapidez com que o fármaco é liberado, ou seja, uma constante maior pode indicar uma liberação inicial mais rápida, que se desacelera à medida que o sistema se estabiliza. Essa diferenciação entre os valores de K para as diversas formulações ajuda a explicar as diferenças observadas no gráfico, como o comportamento da pectina a 3%, que apresenta uma liberação inicial acelerada seguida de um platô (Korsmeyer *et al.*, 1983; Sallam *et al.*, 2015).

#### 4 CAPÍTULO 4: CONCLUSÃO

O trabalho apresenta uma análise detalhada sobre a influência da pectina e gelatina na formação de agregados em sistemas contendo lecitina/NaDC, visando o desenvolvimento de sistemas para a encapsulação e liberação do fármaco Metronidazol (MDZ). A caracterização dos sistemas foi realizada por meio de diversas técnicas, evidenciando que as formulações sofriam opacificação ao longo do tempo, indicando alterações na estabilidade dos agregados conforme a proporção dos componentes anfifílicos.

O uso do espalhamento dinâmico de luz (DLS) revelou que a inclusão de pectina e gelatina promoveu a formação de agregados com diâmetros mais homogêneos e controlados, modulando significativamente o tamanho das partículas. As medições de potencial Zeta demonstraram que os sistemas contendo os biopolímeros apresentaram

valores mais negativos, refletindo uma maior estabilidade coloidal decorrente do aumento das interações eletrostáticas entre as partículas.

A análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) confirmou a presença dos grupos funcionais característicos de lecitina, NaDC, pectina e gelatina, evidenciando interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, fundamentais para a consolidação dos agregados e para a incorporação do fármaco.

Os ensaios reológicos, realizados por meio de curvas de fluxo, varreduras dinâmicas e análises de frequência, indicaram que a adição de pectina aumentou a viscosidade aparente, formando uma rede mais coesa e um gel fraco. Os sistemas contendo gelatina formou redes estruturadas, com uma provável formação de lamelas.

Nos estudos de liberação do metronidazol, efetuados em células de difusão vertical, foi observado um perfil de liberação sustentado ao longo do tempo. Em geral, os sistemas contendo gelatina apresentaram uma liberação mais rápida do fármaco, seguidos pelos sistemas com pectina, que retardaram ligeiramente a liberação devido à sua estrutura tridimensional mais robusta e coesa. A análise cinética da liberação mostrou que o modelo de Korsmeyer-Peppas, evidencia a hipótese de que o mecanismo de liberação envolve a difusão do fármaco através da matriz.

Este estudo mostrou que a incorporação de pectina e gelatina em sistemas autoagregados de lecitina e sal de bile permite modular, de forma eficaz, as características estruturais e a estabilidade dos agregados, impactando diretamente o perfil de liberação do fármaco. Dessa forma, a seleção do tipo e da concentração do biopolímero possibilitou o ajuste da cinética de liberação do fármaco, evidenciando o potencial desses sistemas para aplicações farmacêuticas em regimes de liberação controlada.

## **5 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Aggarwal, G., e Nagpal, M. (2018). Pharmaceutical Polymer Gels in Drug Delivery. *Gels Horizons: From Science to Smart Materials*. 249–284.

Agrawal, N. R., Omarova, M., Burni, F., John, V. T., e Raghavan, S. R. (2021). Spontaneous formation of stable vesicles and vesicle gels in polar organic solvents. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 37(26), 7955–7965. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00628>

Aguilar-Zárate, M., Macias-Rodriguez, B. A., Toro-Vazquez, J. F., e Marangoni, A. G. (2019). Engineering rheological properties of edible oleogels with ethylcellulose and lecithin. *Carbohydrate Polymers*, 205, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.032>

Alam, M. M., Sugiyama, Y., Watanabe, K., e Aramaki, K. (2010). Phase behavior and rheology of oil-swollen micellar cubic phase and gel emulsions in nonionic surfactant systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(2), 267–272. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.09.047>

Aleksandar, R., Milica, P. K., Gorana, M., Boris, M., Anastazija, S.-M., Mladena, L.-P., Snežana, S., Nebojša, S., e Slobodan, G. (2021). Interaction between apigenin and sodium deoxycholate with raloxifene: A potential risk for clinical practice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 161(105809), 105809. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105809>

Alhajj, M. J., Montero, N., Yarce, C. J., e Salamanca, C. H. (2020). Lecithins from vegetable, land, and marine animal sources and their potential applications for cosmetic, food, and pharmaceutical sectors. *Cosmetics*, 7(4), 87. <https://doi.org/10.3390/cosmetics7040087>

Anzini, P., Redoglio, D., Rocco, M., Masciocchi, N., e Ferri, F. (2022). Light scattering and turbidimetry techniques for the characterization of nanoparticles and nanostructured networks. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 12(13), 2214. <https://doi.org/10.3390/nano12132214>

Bagnold, R. A. (1954). Experiments on a gravity free dispersion of large solid spheres in a Newtonian fluid under shear. *Proceedings of the Royal Society of London, series A*, 225, 49–63.

Banat, I. M., Makkar, R. S., e Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 495–508. <https://doi.org/10.1007/s002530051648>

Banat, Ibrahim M., Carboué, Q., Saucedo-Castañeda, G., e de Jesús Cázares-Marinero, J. (2021). Biosurfactants: The green generation of speciality chemicals and potential production using Solid-State fermentation (SSF) technology. *Bioresource Technology*, 320(Pt A), 124222. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124222>

Barani, H., Haji, A., e Maleki, H. (2018). Analysis of lecithin treatment effects on the structural transformation of wool fiber using vibrational spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 585–590. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.167>

Barnes, H. A., Hutton, J. F., e Walters, K. F. R. S. (1993). *An Introduction to Rheology*, 3<sup>ed</sup>. Elsevier Science Publishers B.V.

Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 235, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>

Bingham, E. C. (1922). *Fluidity and plasticity*. McGraw-Hill Book Company, Inc.

Bird, R. B., Dai, G., e Yarusso, B. J. (1983). The rheology and flow of visco-plastic materials. *Rev Chem Eng*, 1–7.

BLAIR, G. W. *Elementary rheology*. London and New York: Academic press, 1969.

Blanco, C., Pico, A., Dopico, J., Gándara, P., Blanco, J., e Liñares, A. (2022). Adjunctive benefits of systemic metronidazole on non-surgical treatment of peri-implantitis. A randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 49(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13564>

Bognolo, G. (1999). Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 152(1–2), 41–52. [https://doi.org/10.1016/s0927-7757\(98\)00684-0](https://doi.org/10.1016/s0927-7757(98)00684-0)

Bot, F., Cossuta, D., e O'Mahony, J. A. (2021). Inter-relationships between composition, physicochemical properties and functionality of lecithin ingredients. *Trends in Food Science e Technology*, 111, 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.028>

Braverman, J. B. S., e Berk, Z. (1976). Braverman's introduction to the biochemistry of foods (New York: Elsevier, Org.).

Campos, J. M., Stamford, T. L. M., Sarubbo, L. A., de Luna, J. M., Rufino, R. D., e Banat, I. M. (2013). Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnology Progress*, 29(5), 1097–1108. <https://doi.org/10.1002/btpr.1796>

Canteri, M. H. G., Moreno, L., Wosiacki, G., e Scheer, A. de P. (2012). Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, 22(2), 149–157. <https://doi.org/10.1590/s0104-14282012005000024>

Cates, M. E., e Candau, S. J. (1990). Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. *Journal of physics. Condensed matter: an Institute of Physics journal*, 2(33), 6869–6892. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/2/33/001>

Cautela, J., Giustini, M., Pavel, N. V., Palazzo, G., e Galantini, L. (2017). Wormlike reverse micelles in lecithin/bile salt/water mixtures in oil. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 532, 411–419. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.052>

Chan, J. M., Zhang, L., Yuet, K. P., Liao, G., Rhee, J.-W., Langer, R., e Farokhzad, O. C. (2009). PLGA-lecithin-PEG core-shell nanoparticles for controlled drug delivery. *Biomaterials*, 30(8), 1627–1634. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.013>

Chandran, P. L. (2020). Sequential Extraction of Late Exponentials (SELE): A technique for deconvolving multimodal correlation curves in Dynamic Light Scattering. *MRS Advances*, 5(17), 865–880. <https://doi.org/10.1557/adv.2020.163>

Choragudi, S. F., Sibin, N., Sree, M. K. P., Saleem, G., Babu, K. P., e Arun, C. H. (2021). A comparative study on isolation and characterization of lecithin from *Gallus gallus* and

Gallus gallus domesticus using analytical methods. *Journal of pharmaceutical research international*, 163–168. <https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i45a32729>

Clogston, J. D., e Patri, A. K. (2011). Zeta Potential Measurement. Em: *Methods in Molecular Biology*. Zeta Potential Measurement. Em: *Methods in Molecular Biology*, 63–70.

Czerner, M., Martucci, J., Fasce, L., Ruseckaite, R., e Frontini, P. (2013). Mechanical and fracture behavior of gelatin gels. *13th International Conference on Fracture*. 4439–4448.

Da Silveira Cáceres de Menezes, M. F., Rodrigues, L. Z., Cavalheiro, C. P., Etchepare, M. A., e Ragagnin de Menezes, C. (2015). Microencapsulação de probióticos por gelificação iônica externa utilizando pectina. *Ciência e Natura*, 37, 30. <https://doi.org/10.5902/2179460x19712>

Denn, M. M., Morris, J. F., e Bonn, D. (2018). Shear thickening in concentrated suspensions of smooth spheres in Newtonian suspending fluids. *Soft matter*, 14(2), 170–184. <https://doi.org/10.1039/c7sm00761b>

Dey, A., Khan, F., Mukhopadhyay, M., Mukhopadhyay, J., Mukherjee, M., Dutta, K., e Das, S. (2023). Amphiphilically engineered sodium deoxycholate based nanocomposite hydrogels with strong bactericidal and water absorption characteristics. *Materials today. Communications*, v. 34, n. 105353.

Diaz, P. S., Vendruscolo, C. T., e Vendruscolo, J. L. S. (2004). Reologia de Xantana: uma revisão sobre a influência de eletrólitos na viscosidade de soluções aquosas de gomas xantana. *Semina Ciências Exatas e Tecnológicas*, 25(1), 15. <https://doi.org/10.5433/1679-0375.2004v25n1p15>

Diós, P. (2016). Preformulation studies and optimization of floating drug delivery systems based on pharmaceutical technological and biopharmaceutical parameters. Unpublished. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1678.2481>

Duri, A., Bissig, H., Trappe, V., e Cipelletti, L. (2005). Time-resolved-correlation measurements of temporally heterogeneous dynamics. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, 72 5 Pt 1, 051401 .

Edwards, B. J., Keffer, D. J., e Reneau, C. W. (2002). An examination of the shear-thickening behavior of high molecular weight polymers dissolved in low-viscosity Newtonian solvents. *Journal of Applied Polymer Science*, 85(8), 1714–1735. <https://doi.org/10.1002/app.10807>

El-Demrdash, S. A., Nixon-Luke, R., Thomsen, L., Tadich, A., Lau, D. W. M., Chang, S. L. Y., Greaves, T. L., Bryant, G., e Reineck, P. (2021). The effect of salt and particle concentration on the dynamic self-assembly of detonation nanodiamonds in water. *Nanoscale*, 13(33), 14110–14118. <https://doi.org/10.1039/d1nr04847c>

Elnaggar, Y. S. R. (2015). Multifaceted applications of bile salts in pharmacy: an emphasis on nanomedicine. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 3955–3971. <https://doi.org/10.2147/IJN.S82558>

Elnaggar, Y. S. R., El-Refaie, W. M., El-Massik, M. A., e Abdallah, O. Y. (2014). Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: an update on state of art and recent applications. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 180, 10–24. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.02.004>

Ferreira, J. O., Zambuzi, G. C., Camargos, C. H. M., Carvalho, A. C. W., Ferreira, M. P., Rezende, C. A., de Freitas, O., e Francisco, K. R. (2024). Zein and hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate microfibers combined with metronidazole benzoate and/or metronidazole-incorporated cellulose nanofibrils for potential periodontal treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 261(Pt 1), 129701. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129701>

Fornasier, M., Pireddu, R., Del Giudice, A., Sinico, C., Nylander, T., Schillén, K., Galantini, L., e Murgia, S. (2021). Tuning lipid structure by bile salts: Hexosomes for topical administration of catechin. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, v. 199, n. 111564.

Francisco, Kelly R., da Silva, M. A., Sabadini, E., Karlsson, G., e Dreiss, C. A. (2010). 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*, 345(2), 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.01.086>

Francisco, Kelly Roberta, Dreiss, C. A., Bouteiller, L., e Sabadini, E. (2012). Tuning the viscoelastic properties of bis(urea)-based supramolecular polymer solutions by adding cosolutes. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 28(41), 14531–14539. <https://doi.org/10.1021/la3025606>

Gándola, Y. B., Fontana, C., Bojorge, M. A., Luschnat, T. T., Moreton, M. A., Chiapetta, D. A., Verstraeten, S. V., e González, L. (2020). Concentration-dependent effects of sodium cholate and deoxycholate bile salts on breast cancer cells proliferation and survival. *Molecular Biology Reports*, 47(5), 3521–3539. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05442-2>

Goodwin, J. W. (2004). *Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers - An Introduction* (W. S. Wiley, Org.).

Goodwin, J. W., e Hughes, R. W. (2000). *Rheology for chemists: An introduction*. The Royal Society of Chemistry.

Gordievskaya, Y. D., Rumyantsev, A. M., e Kramarenko, E. Y. (2016). Polymer gels with associating side chains and their interaction with surfactants. *The Journal of Chemical Physics*, 144(18), 184902. <https://doi.org/10.1063/1.4948730>

Gradzielski, M. (2023). Polymer–surfactant interaction for controlling the rheological properties of aqueous surfactant solutions. *Current Opinion in Colloid e Interface Science*, 63(101662), 101662. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2022.101662>

Gray, J. J., e Bonnecaze, R. T. (1998). Rheology and dynamics of sheared arrays of colloidal particles. *Journal of Rheology*. v, v, 42(5), 1121–1151.

Guo, J., Long, R., Mayumi, K., e Hui, C.-Y. (2016). Correction to mechanics of a dual cross-link gel with dynamic bonds: Steady state kinetics and large deformation effects. *Macromolecules*, 49(11), 4378–4378. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b01027>

Hashizaki, K., Sakanishi, Y., Yako, S., Tsusaka, H., Imai, M., Taguchi, H., e Saito, Y. (2012). New lecithin organogels from lecithin/polyglycerol/oil systems. *Journal of Oleo Science*, 61(5), 267–275. <https://doi.org/10.5650/jos.61.267>

Hassan, P. A., Rana, S., e Verma, G. (2015). Making sense of Brownian motion: colloid characterization by dynamic light scattering. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 31(1), 3–12. <https://doi.org/10.1021/la501789z>

Hernández Ceruelos, A., Romero-Quezada, L. C., Ruvalcaba Ledezma, J. C., e López Contreras, L. (2019). Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(1), 397–401. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201901\\_16788](https://doi.org/10.26355/eurrev_201901_16788)

Holmberg, K., Jonsson, B., Kronberg, B., e Lindman, B. (2002). *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution* (2o ed). John Wiley e Sons.

Hone, J. H. E., Howe, A. M. e Cosgrove, T. A. (2000). A rheological and small-angle neutron scattering study of the structure of gelatin/polyelectrolyte complexes under shear. , 1199–1205.

Hu, S., Sun, T., Li, R., Zhang, D., Zhang, Y., Yang, Z., Feng, G., e Guo, X. (2022). Comparison of the performance of different bile salts in enantioselective separation of palonosetron stereoisomers by micellar electrokinetic chromatography. *Molecules*. *Molecules*, 27(16), 5233.

Huang, H., e Sorensen, C. M. (1996). Shear effects during the gelation of aqueous gelatin. *Physical Review. E, Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 53(5), 5075–5078. <https://doi.org/10.1103/physreve.53.5075>

Huang, T., Tu, Z.-C., Wang, H., Shangguan, X., Zhang, L., Zhang, N.-H., e Bansal, N. (2017). Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure. *Carbohydrate polymers*, 156, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.040>

Huang, X., Lv, D., Ai, L.-Q., Cheng, S. H., e Yao, X. (2021). Aggregate engineering in supramolecular polymers via extensive non-covalent networks. *Chinese Journal of Polymer Science*, 39(10), 1310–1318. <https://doi.org/10.1007/s10118-021-2608-x>

Huo, W., Zhang, X., Gan, K., Chen, Y., Xu, J., e Yang, J. (2019). Effect of zeta potential on properties of foamed colloidal suspension. *Journal of the European Ceramic Society*, 39(2–3), 574–583.

Israelachvili, J. N., Mitchell, D. J., e Ninham, B. W. (1976). Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *Journal of the Chemical Society*, 72, 1525. <https://doi.org/10.1039/f29767201525>

Jiang, J., Tong, X., Morris, D., e Zhao, Y. (2006). Toward photocontrolled release using light-dissociable block copolymer micelles. *Macromolecules*, 39(13), 4633–4640. <https://doi.org/10.1021/ma060142z>

Junmahasathien, T., Panraksa, P., Protiarn, P., Hormdee, D., Noisombut, R., Kantrong, N., e Jantrawut, P. (2018). Preparation and evaluation of metronidazole-loaded pectin films for potentially targeting a microbial infection associated with periodontal disease. *Polymers*, 10(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/polym10091021>

Kalaiarasi, C., George, C., Gonnade, R. G., Hathwar, V. R., e Poomani, K. (2019). Experimental and theoretical charge density, intermolecular interactions and electrostatic properties of metronidazole. *Acta Crystallographica Section B, Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 75(Pt 6), 942–953. <https://doi.org/10.1107/S2052520619011272>

Kanjickal, D. G., e Lopina, S. T. (2004). Modeling of drug release from polymeric delivery systems--a review. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 21(5), 345–386. <https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v21.i5.10>

Kato, H. (2021). *Laser Scattering Spectroscopy*. Em *Handbook of Laser Technology and Applications* (p. 197–205). CRC Press.

Kaunisto, E., Marucci, M., Borgquist, P., e Axelsson, A. (2011). Mechanistic modelling of drug release from polymer-coated and swelling and dissolving polymer matrix systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 418(1), 54–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.01.021>

Khalatur, P.G., Khokhlov, A.R., Nyrkova, I.A., e Semenov, A. (1996). Aggregation processes in self-associating polymer systems: Computer simulation study of micelles in the superstrong segregation regime. *Macromolecular Theory and Simulations*, 5, 713–747.

Klimek-Szczykutowicz, M., Błońska-Sikora, E. M., Kulik-Siarek, K., Zhussupova, A., e Wrzosek, M. (2024). Bioferments and biosurfactants as new products with potential use in the cosmetic industry. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 14(9), 3902. <https://doi.org/10.3390/app14093902>

Kopec, R. E., e Failla, M. L. (2018a). *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University. International Network of Food Data Systems*, 68, 16–30.

Kopec, R. E., e Failla, M. L. (2018b). *Journal of food composition and analysis: an official publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*. 68, 16–30.

Korevaar, P. A., George, S. J., Markvoort, A. J., Smulders, M. M. J., Hilbers, P. A. J., Schenning, A. P. H. J., De Greef, T. F. A., e Meijer, E. W. (2012). Pathway complexity in supramolecular polymerization. *Nature*, 481(7382), 492–496. <https://doi.org/10.1038/nature10720>

Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., e Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9)

Laviña, E. H., Angulo, L. J., e Sáez, V. (2004). Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(1), 17–23.

Lefebvre, J., e Antonov, Y. (2001). Stability against aggregation of bovine casein micelles in the presence of acidic and alkaline gelatin. *Colloid and polymer science*, 279(5), 434–441. <https://doi.org/10.1007/s003960000437>

Li, J., Wang, X., Zhang, T., Wang, C., Huang, Z., Luo, X., e Deng, Y. (2015). A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 81–98. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.004>

Lima, A. M. F., Soldi, V., e Borsali, R. (2009). Dynamic light scattering and viscosimetry of aqueous solutions of pectin, sodium alginate and their mixtures: effects of added salt, concentration, counterions, temperature and chelating agent. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(9), 1705–1714. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532009000900020>

Lins, A. (2010). Desenvolvimento de fruta estruturada com umidade intermediária obtida de polpas concentradas de três genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.). Dissertação.

Liu, Chang, Kadono, H., Mayumi, K., Kato, K., Yokoyama, H., e Ito, K. (2017). Unusual fracture behavior of slide-ring gels with movable cross-links. *ACS Macro Letters*, 6(12), 1409–1413. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.7b00729>

Liu, Chengfei, Liu, C., Bai, Y., Wang, J., e Tian, W. (2023). Drug self-delivery systems: Molecule design, construction strategy, and biological application. *Advanced Healthcare Materials*, 12(10), e2202769. <https://doi.org/10.1002/adhm.202202769>

Liu, Y., Cheong Ng, S., Yu, J., e Tsai, W.-B. (2019). Modification and crosslinking of gelatin-based biomaterials as tissue adhesives. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 174, 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.10.077>

Macosko, C. W. (1994). *Rheology: Principles, Measurements and Applications*. Wiley-VCH Verlag.

Madenci, D., e Egelhaaf, S. U. (2010). Self-assembly in aqueous bile salt solutions. *Current Opinion in Colloid e Interface Science*, 15(1–2), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.010>

Mariani, G., Schweins, R., e Gröhn, F. (2016). Electrostatic self-assembly of dendrimer macroions and multivalent dye counterions: The role of solution ionic strength. *Macromolecules*, 49(22), 8661–8671. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b00565>

Matsunaga, T., e Shibayama, M. (2007). Gel point determination of gelatin hydrogels by dynamic light scattering and rheological measurements. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*.

McClements, D. J. (2017). Designing biopolymer microgels to encapsulate, protect and deliver bioactive components: Physicochemical aspects. *Advances in Colloid and Interface Science*, 240, 31–59. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.12.005>

Mehrali, M., Thakur, A., Kadumudi, F. B., Pierchala, M. K., Cordova, J. A. V., Shahbazi, M.-A., Mehrali, M., Pennisi, C. P., Orive, G., Gaharwar, A. K., e Dolatshahi-Pirouz, A. (2019). Pectin methacrylate (PEMA) and gelatin-based hydrogels for cell delivery: Converting waste materials into biomaterials. *ACS Applied Materials e Interfaces*, 11(13), 12283–12297. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b00154>

Mekkaoui, A., Liu, Y., Zhang, P., Ullah, S., Wang, C., e Xu, B. (2021). Effect of bile salts on the interfacial dilational rheology of lecithin in the lipid digestion process. *Journal of Oleo Science*, 70(8), 1069–1080. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21081>

Milchev, A., Wittmer, J. P., e Landau, D. P. (1999). A Monte-Carlo study of equilibrium polymers in a shear flow. *The European Physical Journal. B*, 12(2), 241–251. <https://doi.org/10.1007/s100510051001>

Misra, P. K., Meher, J., e Maharana, S. (2016). Investigation on the gelatin-surfactant interaction and physiochemical characteristics of the mixture. *Journal of Molecular Liquids*, 224, 900–908. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.10.043>

Mohammed, A., e Mohammed, M. A. (2009). Effect of Type and Concentration of Different Water Soluble Polymer Solutions on Rheological Properties. *Al-Nahrain Journal for Engineering Sciences*, v, 12, 26–37.

Moroi, Y. (1992). *Micelles: Theoretical and Applied Aspects* (1992o ed). Kluwer Academic/Plenum.

Mukherjee, B., Dar, A. A., Bhat, P. A., Moulik, S. P., e Das, A. R. (2016). Micellization and adsorption behaviour of bile salt systems. *RSC Advances*, 6(3), 1769–1781. <https://doi.org/10.1039/c5ra20909a>

Munhoz, C. L., Sanjinez-Argandoña, E. J., e Soares-Júnior, M. S. (2010). Extração de pectina de goiaba desidratada. *Food Science and Technology*, 30(1), 119–125. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612010005000013>

Na, M., Kim, K., Oh, K., Choi, H. J., Ha, C., e Chang, S. (2022). Sodium cholate-based active delipidation for rapid and efficient clearing and immunostaining of deep biological samples. *Small Methods*, 6(1), e2100943. <https://doi.org/10.1002/smtd.202100943>

Nasab, M., Takzaree, N., Saffari P., Partoazar A. (2019). In vitro antioxidant activity and in vivo wound-healing effect of lecithin liposomes: a comparative study. *Journal of comparative effectiveness research*, 8, 633–643.

Naso, J. N., Bellesi, F. A., Pizones Ruiz-Henestrosa, V. M., e Pilosof, A. M. R. (2019). Studies on the interactions between bile salts and food emulsifiers under in vitro duodenal

digestion conditions to evaluate their bile salt binding potential. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 174, 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.024>

Nigro, V., Angelini, R., King, S., Franco, S., Buratti, E., Bomboi, F., Mahmoudi, N., Corvasce, F., Scaccia, R., Church, A., Charleston, T., e Ruzicka, B. (2021). Apparatus for simultaneous dynamic light scattering-small angle neutron scattering investigations of dynamics and structure in soft matter. *The Review of scientific instruments*.

Njauw, C.-W., Cheng, C.-Y., Ivanov, V. A., Khokhlov, A. R., e Tung, S.-H. (2013). Molecular interactions between lecithin and bile salts/acids in oils and their effects on reverse micellization. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 29(12), 3879–3888. <https://doi.org/10.1021/la304601p>

Nommensen, P. A., van den Ende, D., Duits, M. H. G., e Mellema, J. (2001). Rheological behavior of polymerically stabilized suspensions: Two different polymer layers compared. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 17(19), 5757–5767. <https://doi.org/10.1021/la000972k>

Nugrahani, I., e Aliah, A. I. (2019). The -NO<sub>2</sub> vibrational spectra of metronidazole for analytical method development using Fourier Transform Infrared compared to the UV-VIS spectrophotometry. *Biointerface Research in Applied Chemistry*.

Oseliero Filho, P. L. (2013). Estudo estrutural e termodinâmico de sistemas micelares formados por surfactantes (Dissertação de Mestrado).

Osorno, L. L., Brandley, A. N., Maldonado, D. E., Yiantos, A., Mosley, R. J., e Byrne, M. E. (2021). Review of contemporary self-assembled systems for the controlled delivery of therapeutics in medicine. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(2), 278. <https://doi.org/10.3390/nano11020278>

Pabois, O., Lorenz, C. D., Harvey, R. D., Grillo, I., Grundy, M. M.-L., Wilde, P. J., Gerelli, Y., e Dreiss, C. A. (2019). Molecular insights into the behaviour of bile salts at interfaces: a key to their role in lipid digestion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 556, 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.08.010>

Pagán, J. (2001). Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, 7, 605–612.

Pahomi, G., Gorlan G., Anuda, V. (2012). Study of the influence of bile salts and lecithin on distribution of ketoconazole between plasma and methylene chloride. *Farmácia* .

Panouillé, M., Durand, D., Nicolai, T., Larquet, E., e Boisset, N. (2005). Aggregation and gelation of micellar casein particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 287(1), 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.02.008>

Pavlović, N., Goločorbin-Kon, S., Đanić, M., Stanimirov, B., Al-Salami, H., Stankov, K., e Mikov, M. (2018). Bile acids and their derivatives as potential modifiers of drug release and pharmacokinetic profiles. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1283. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01283>

Pérez-Trallero, E., e Iglesias, L. (2003). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 21(9), 520–529. <https://doi.org/10.1157/13052338>

Phadke, K. V., Manjeshwar, L. S., e Aminabhavi, T. M. (2014). Microspheres of gelatin and poly(ethylene glycol) coated with ethyl cellulose for controlled release of metronidazole. *Industrial e Engineering Chemistry Research*, 53(16), 6575–6584. <https://doi.org/10.1021/ie404052q>

Porfirio, T. (2021). *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*.

Postnov, D. D., Tang, J., Erdener, S. E., Kılıç, K., e Boas, D. A. (2020). Dynamic light scattering imaging. *Science advances*, v. 6, n. 45.

Prakash, A. A., Prabhu, N. S., Rajasekar, A., Parthipan, P., AlSalhi, M. S., Devanesan, S., e Govarathanan, M. (2021). Bio-electrokinetic remediation of crude oil contaminated

soil enhanced by bacterial biosurfactant. *Journal of Hazardous Materials*, 405(124061), 124061. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124061>

Pramar, Y. V., Mandal, T. K., Bostanian, L. A., Le, G., Morris, T. C., e Graves, R. A. (2021). Physicochemical and microbiological stability of compounded metronidazole suspensions in PCCA SuspendIt. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 25(2), 169–175.

Předota, M., Machesky, M. L., e Wesolowski, D. J. (2016). Molecular origins of the zeta potential. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 32(40), 10189–10198. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02493>

Purwar, R., Verma, A., e Batra, R. (2019). Antimicrobial gelatin/sericin/clay films for packaging of hygiene products. *Journal of Polymer Engineering*, 39(8), 744–751. <https://doi.org/10.1515/polyeng-2018-0406>

Qiu, H., Gao, Y., Du, V. A., Harniman, R., Winnik, M. A., e Manners, I. (2015). Branched micelles by living crystallization-driven block copolymer self-assembly under kinetic control. *Journal of the American Chemical Society*, 137(6), 2375–2385. <https://doi.org/10.1021/ja5126808>

Rabóczkay, T. (2016). *Físico-Química de Interfaces*.

Rao, M. (2005). *Rheological properties of fluid foods*. Em: *Engineering Properties of Foods*. CRC Press.

Robert, C., Couëdelo, L., Vaysse, C., e Michalski, M.-C. (2020). Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention. *Biochimie*, 169, 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.11.017>

Rubio-Hernández, F.J., Sánchez-Toro, J.H., e Páez-Flor, N.M. (2020). Testing shear thinning/thixotropy and shear thickening/antithixotropy relationships in a fumed silica suspension. *Journal of Rheology*, 64, 785-797.

Said, N. S., Olawuyi, I. F., e Lee, W. Y. (2023). Pectin hydrogels: Gel-forming behaviors, mechanisms, and food applications. *Gels* (Basel, Switzerland), 9(9). <https://doi.org/10.3390/gels9090732>

Sajadi Bami, M., Raeisi Estabragh, M. A., Ohadi, M., Banat, I. M., e Dehghannoudeh, G. (2022). Biosurfactants aided bioremediation mechanisms: A mini-review. *Soil e Sediment Contamination*, 31(7), 801–817. <https://doi.org/10.1080/15320383.2021.2016603>

Salawi, A. (2022). Self-emulsifying drug delivery systems: a novel approach to deliver drugs. *Drug Delivery*, 29(1), 1811–1823. <https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2083724>

Sallam, A.-S., Hamudi, F. F., e Khalil, E. A. (2015). Effect of ethylcellulose and propylene glycol on the controlled-release performance of glyceryl monooleate-mertronidazole periodontal gel. *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(2), 159–168. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.852573>

Salome, C., Godswill, O., e Ikechukwu, O. (2013). Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non-swellable matrices: A review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(4), 1953–1969.

Santos, C., Vieira, I., Santos, B., Ruzene, D., Silva, D. (2021). *Ambiente e Sociedade: concepções, fundamentos, diálogos e práticas para conservação da natureza*. Editora Científica Digital, 319–342.

Sarode, A., Annapragada, A., Guo, J., e Mitragotri, S. (2020). Layered self-assemblies for controlled drug delivery: A translational overview. *Biomaterials*, 242(119929), 119929. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119929>

Satpute, S. K., Zinjarde, S., e Banat, I. M. (2018). Recent updates on biosurfactant/s in Food industry.

Semblat, J. F. (1997). Rheological interpretation of Rayleigh damping. *Journal of sound and vibration*, 5, 741–744.

Sharma, D., Singh, D., Sukhbir-Singh, G. M., Karamchandani, B. M., Aseri, G. K., Banat, I. M., e Satpute, S. K. (2023). Biosurfactants: Forthcomings and regulatory affairs in food-based industries. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(6), 2823. <https://doi.org/10.3390/molecules28062823>

Sharma, V. K., Mitra, S., e Mukhopadhyay, R. (2019). Dynamic landscape in self-assembled surfactant aggregates. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 35(44), 14151–14172. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b03596>

Singh, K., Chauhan, S. (2020a). Temperature dependent micellar behavior of sodium cholate and sodium deoxycholate in the presence of ceftriaxone sodium: A physicochemical study. *Journal of Molecular Liquids*. v, v, 316.

Singh, K., Chauhan, S. (2020b). 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 and Engineering Data*, 65(9), 4536–4546. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.0c00360>

Singh, V. K., Pandey, P. M., Agarwal, T., Kumar, D., Banerjee, I., Anis, A., e Pal, K. (2015). Development of soy lecithin based novel self-assembled emulsion hydrogels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 55, 250–263. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.10.027>

Smith, M. C., Crist, R. M., Clogston, J. D., e McNeil, S. E. (2017). Zeta potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(24), 5779–5787. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0527-z>

Stetefeld, J., McKenna, S. A., e Patel, T. R. (2016). Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews*, 8(4), 409–427. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>

Suys, E. J. A., Warren, D. B., Porter, C. J. H., Benameur, H., Pouton, C. W., e Chalmers, D. K. (2017). Computational models of the intestinal environment. 3. The impact of cholesterol content and pH on mixed Micelle colloids. *Molecular Pharmaceutics*, 14(11), 3684–3697. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00446>

Sznitowska, M. (2005). Lecithin - pharmaceutical applications expanded beyond liposomes. *Cellular e Molecular Biology Letters*.

Toneli, J. T. C. L., Murr, F. E. X., e Park, K. J. (2005). ESTUDO DA REOLOGIA DE POLISSACARÍDEOS UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS. *Revista brasileira de produtos agroindustriais*, 7(2), 181–204. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v7n2p181-204>

Trabelsi, S., Raspaud, E., e Langevin, D. (2007). Aggregate formation in aqueous solutions of carboxymethylcellulose and cationic surfactants. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 23(20), 10053–10062. <https://doi.org/10.1021/la7016177>

Tsugawa, J., de Oliveira Romano, R., Pileggi, R. e Boscov, M. (2019). Review: Rheology concepts applied to geotechnical engineering. *Applied rheology*. *Applied rheology*, 202–221.

Tung, S.-H., Huang, Y.-E., e Raghavan, S. R. (2006). A new reverse wormlike micellar system: mixtures of bile salt and lecithin in organic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 128(17), 5751–5756. <https://doi.org/10.1021/ja0583766>

Turchi, M., Karcz, A. P., e Andersson, M. P. (2022). First-principles prediction of critical micellar concentrations for ionic and nonionic surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science*, 606(Pt 1), 618–627. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.08.044>

Vaidya, A., Jain, A., Khare, P., Agrawal, R. K., e Jain, S. K. (2009). Metronidazole loaded pectin microspheres for colon targeting. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(11), 4229–4236. <https://doi.org/10.1002/jps.21742>

Vater, C., Adamovic, A., Rutensteiner, L., Steiner, K., Tajpara, P., Klang, V., Elbe-Bürger, A., Wirth, M., e Valenta, C. (2019). Cytotoxicity of lecithin-based nanoemulsions on human skin cells and ex vivo skin permeation: Comparison to conventional surfactant types. *International Journal of Pharmaceutics*, 566, 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.078>

Vaziri, A. S., Alemzadeh, I., Vossoughi, M., e Khorasani, A. C. (2018). Co-microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* and DHA fatty acid in alginate-pectin-gelatin biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 199, 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.002>

Villanova, J. C. O., Oréface, R. L., e Cunha, A. S. (2010). Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros*, 20(1), 51–64. <https://doi.org/10.1590/s0104-14282010005000009>  
Voragen, A. G. J., Coenen, G.-J., Verhoef, R. P., e Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 20(2), 263–275. <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z>

Warren, D. B., Chalmers, D. K., Hutchison, K., Dang, W., e Pouton, C. W. (2006). Molecular dynamics simulations of spontaneous bile salt aggregation. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 280(1–3), 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.009>

Waschek, R. C., Dutra, A. R., Grandsire, C., Almeida, O. C., e Moreira, S. O. L. (2008). Pectina: um carboidrato complexo e suas aplicações. *Estudos Goiânia*, 343–355.

Wen, Q., e Dong, Y. (2016). *Gels Handbook: Fundamentals, Properties and Applications*.

Wu, T., Huang, J., e Yan, Y. (2019). Self-assembly of aggregation-induced-emission molecules. *Chemistry, an Asian Journal*, 14(6), 730–750. <https://doi.org/10.1002/asia.201801884>

Yang, H., Zheng, G., e Li, M.-C. (2008). A discussion of noise in Dynamic Light Scattering for particle sizing. *Particle e particle systems characterization: measurement*

and description of particle properties and behavior in powders and other disperse systems. 406–413.

Yang, Z., Hemar, Y., Hilliou, L., Gilbert, E. P., McGillivray, D. J., Williams, M. A. K., e Chaieb, S. (2016). Nonlinear behavior of gelatin networks reveals a hierarchical structure. *Biomacromolecules*, 17(2), 590–600. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b01538>

Zamani, M., Morshed, M., Varshosaz, J., e Jannesari, M. (2010). Controlled release of metronidazole benzoate from poly epsilon-caprolactone electrospun nanofibers for periodontal diseases. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 75(2), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.02.002>

Zeisel, S. H. (2012). A brief history of choline. *Annals of Nutrition e Metabolism*, 61(3), 254–258. <https://doi.org/10.1159/000343120>

Zhang, H., Dudley, E. G., Davidson, P. M., e Harte, F. (2017). Critical concentration of lecithin enhances the antimicrobial activity of eugenol against *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(8). <https://doi.org/10.1128/AEM.03467-16>

Zhang, Z., Ma, R., e Shi, L. (2014). Cooperative macromolecular self-assembly toward polymeric assemblies with multiple and bioactive functions. *Accounts of Chemical Research*, 47(4), 1426–1437. <https://doi.org/10.1021/ar5000264>

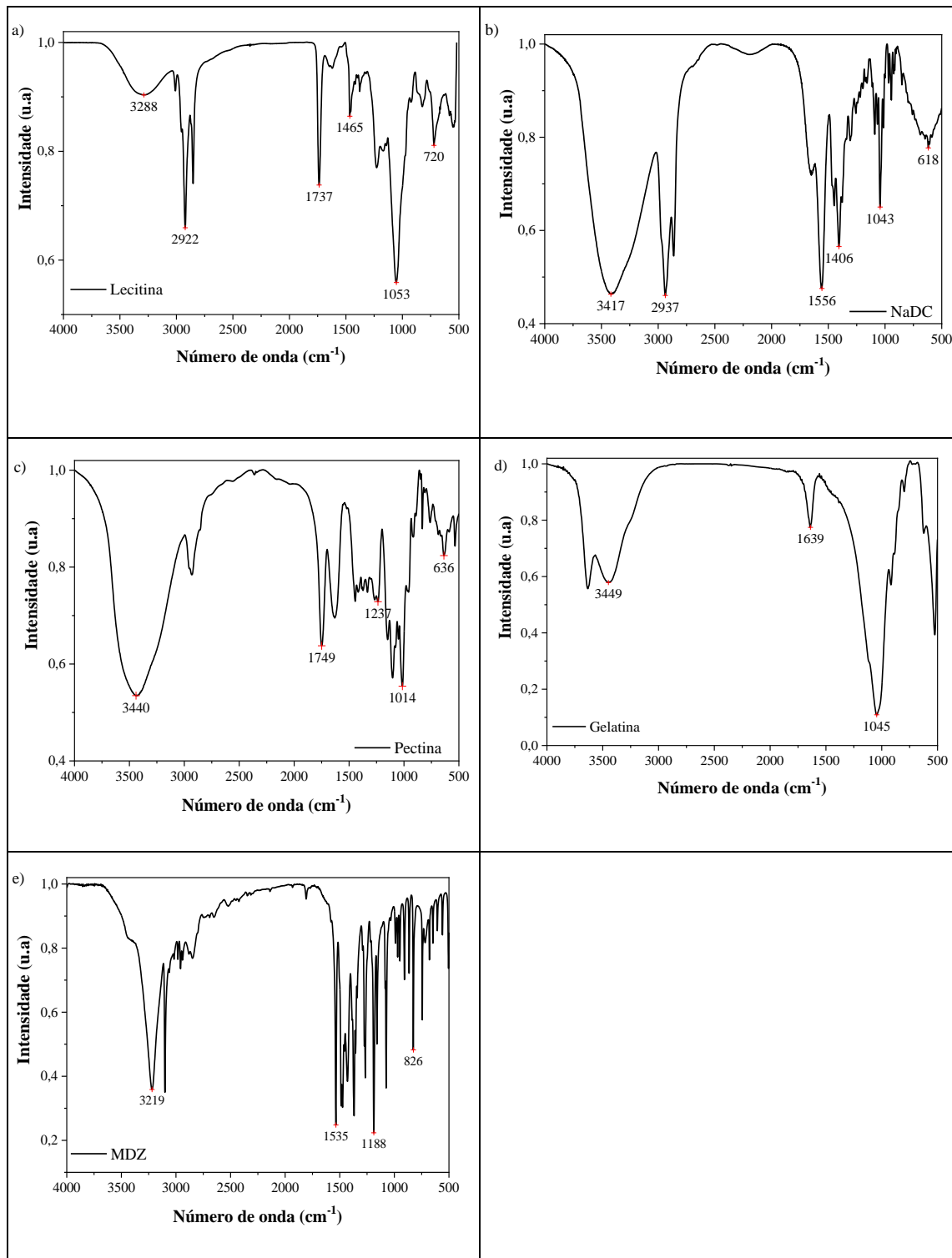
Zhang Z.-W., Zuo J., e Zhang C.-L. (2012). Far-IR and THz absorption spectra studies of metronidazole, tinidazole and ornidazole. *Guang pu xue yu guang pu fen xi*, 32(4), 906–909.

Zhao, F., Li, R., Liu, Y., e Chen, H. (2022). Perspectives on lecithin from egg yolk: Extraction, physicochemical properties, modification, and applications. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1082671. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1082671>

Zhou, H., Yue, Y., Liu, G., Li, Y., Zhang, J., Gong, Q., Yan, Z., e Duan, M. (2009). Preparation and characterization of a lecithin nanoemulsion as a topical delivery system. *Nanoscale Research Letters*, 5(1), 224–230. <https://doi.org/10.1007>

## APÊNDICE

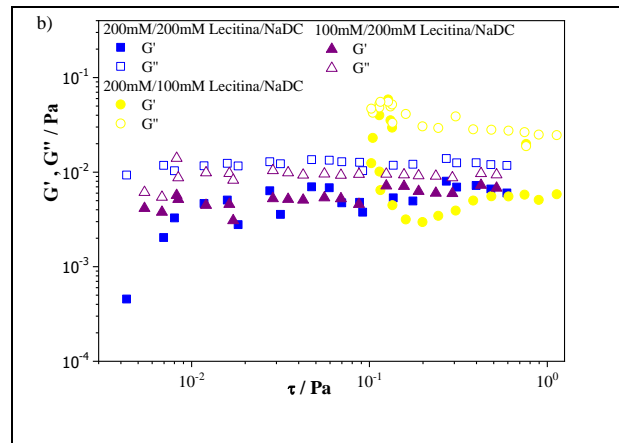
Figura A1: Espectro da a) lecitina de soja e b) NaDC c) pectina e d) gelatina



Fonte: Autoria própria.

Figura A2: Ensaio reológicos *a)* varredura dinâmica do controle de lecitina/NaDC

(■) 200mM/200mM (●) 200mM/100mM e (▲) 100mM/200mM.

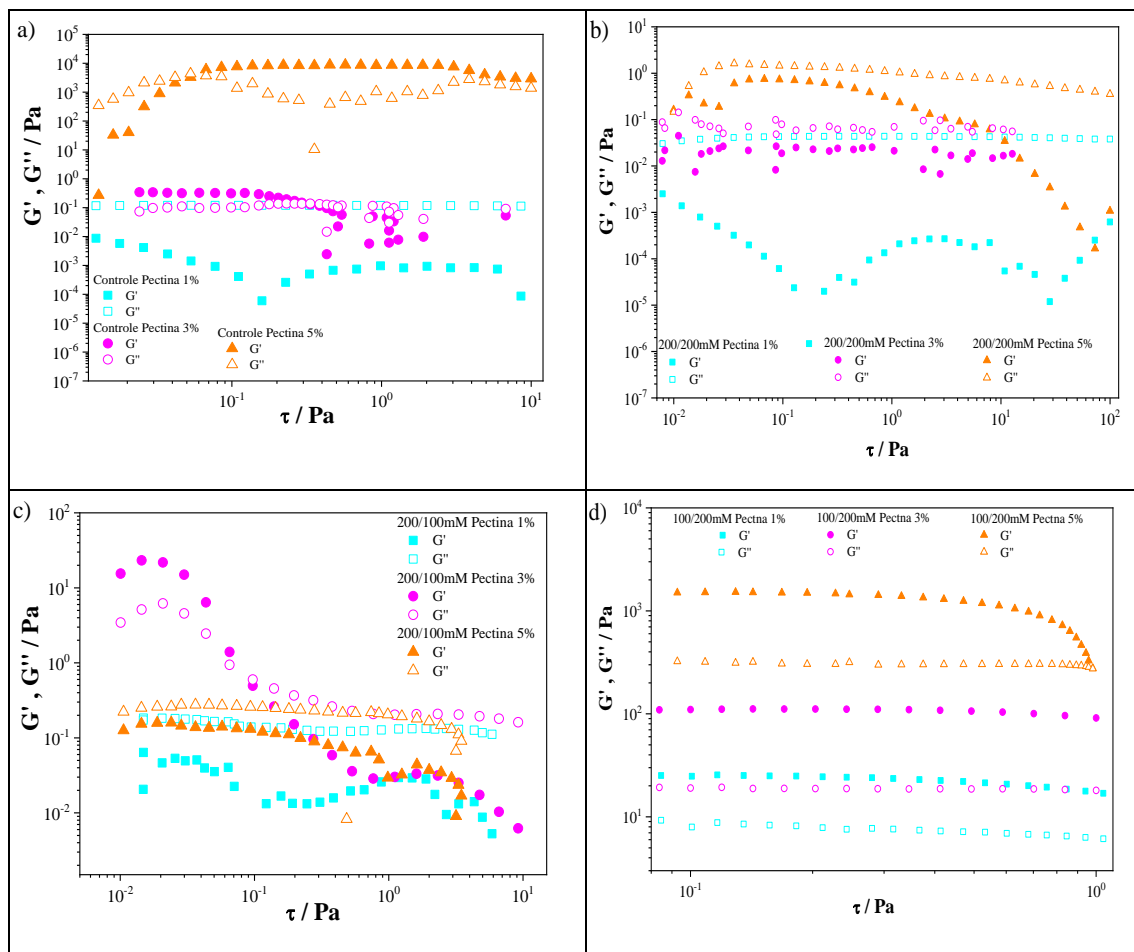


\* Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

Fonte: Autoria própria.

Figura A3: Ensaio reológicos varredura dinâmica do sistema *a)* controle de pectina, *b)* 200mM/200mM, *c)* 200mM/100mM e *d)* 100mM/200mM de pectina (■) 1%;

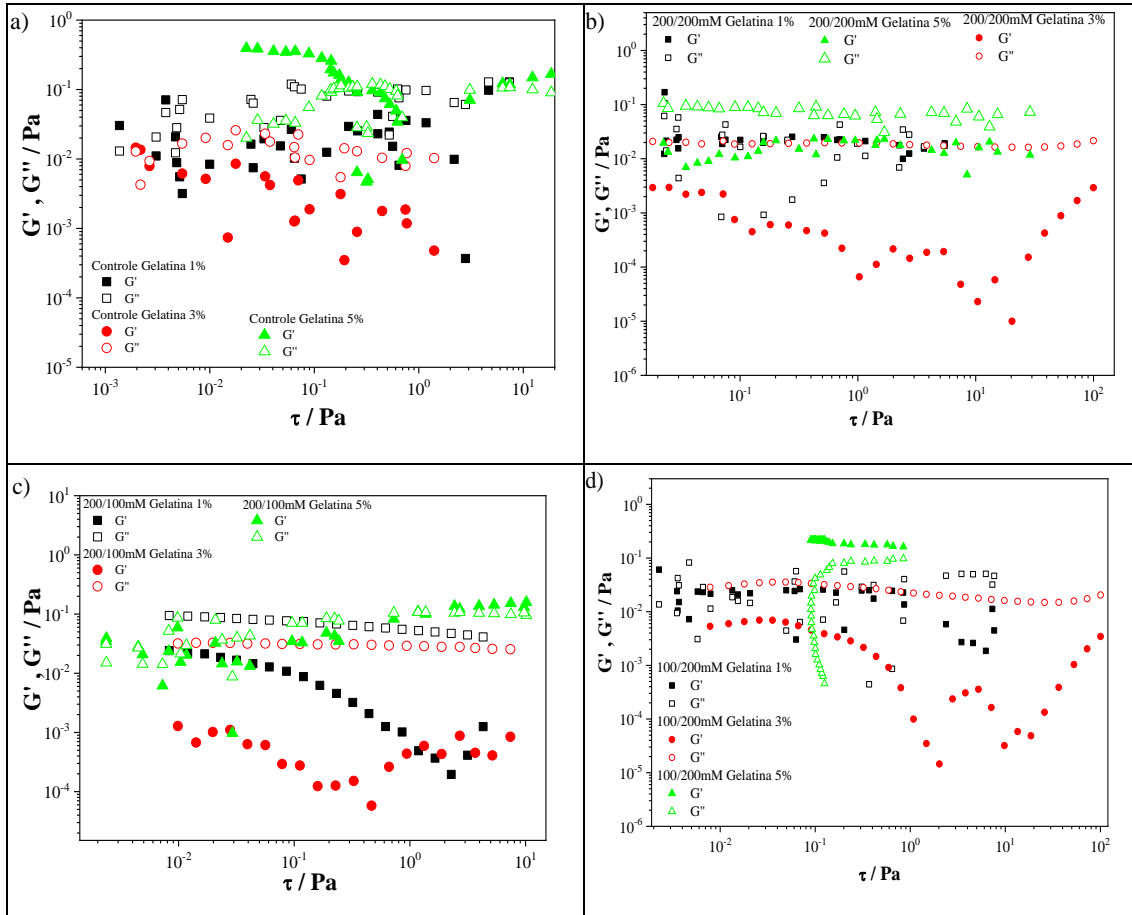
(●) 3% e (▲) 5%.



\* Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$

Fonte: Autoria própria.

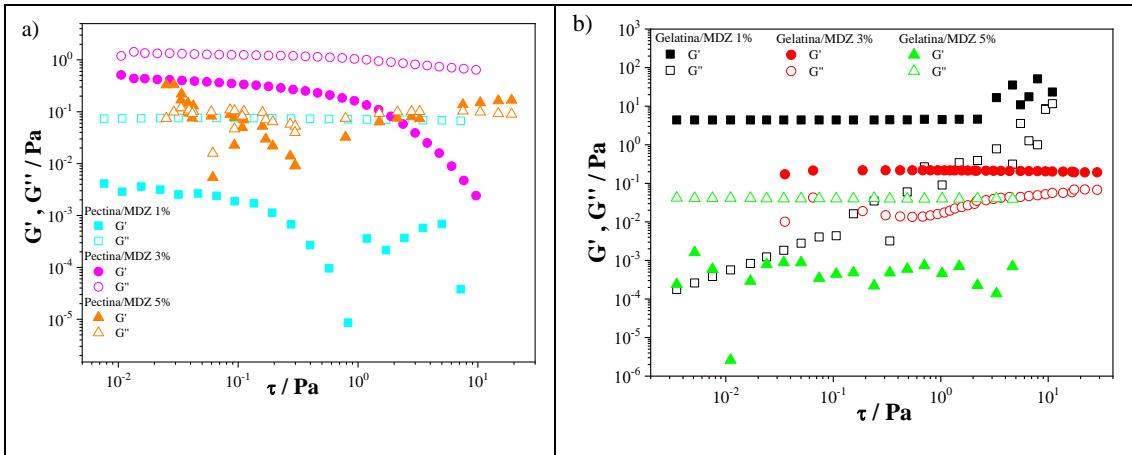
Figura A4: Ensaios reológicos varredura dinâmica do sistema *a)* controle de gelatina, *b)* 200mM/200mM, *c)* 200mM/100mM e *d)* 100mM/200mM de gelatina (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\* Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$ .

Fonte: Autoria própria.

Figura A5: Ensaios reológicos de varredura dinâmica de tensão de *a)* pectina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%; e *b)* gelatina/MDZ (■) 1%; (●) 3% e (▲) 5%.



\*Os símbolos cheios representam os módulos  $G'$  e os símbolos vazados representam os módulos  $G''$ .

Fonte: Autoria própria.