



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E
NANBIOTECNOLOGIA

ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES UTILIZANDO LIGNOSSULFONATO: UMA
ABORDAGEM SUSTENTÁVEL NO CARREAMENTO DO PRAZIQUANTEL

BRASÍLIA

2025

BRUNO ILES

**Estabilização de emulsões utilizando lignossulfonato: uma abordagem sustentável no
carreamento do praziquantel**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de
Brasília como requisito para obtenção do título de
Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia.

Orientador: João Paulo Figueiró Longo

Coorientador: Rilton Alves de Freitas

BRASÍLIA

2025

BRUNO ILES

Estabilização de emulsões utilizando lignossulfonato: uma abordagem sustentável no
carreamento do praziquantel

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da
Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do título de Doutor em Nanociência e
Nanobiotecnologia.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Paulo Figueiró Longo
UnB (Orientador)

Prof. Dr. Luís Alexandre Muehlmann
UnB

Dr.^a. Jéssica Maria Teles Souza
UFDFPar

Dr.^a. Priscila Gritten Sieben
Ministério da Saúde

Prof.^a. Dr.^a. Luana Cristina Camargo
Suplente

*“Eu cheguei de muito longe,
E a viagem foi tão longa,
E na minha caminhada,
Obstáculos na estrada.
Mas enfim aqui estou (...)”*

(ErasmO Carlos – É Preciso Dar um Jeito, Meu Amigo)

Agradecimentos

Nunca imaginei que, um dia, os agradecimentos desta tese de doutorado seria o tópic que mais me consumiria tempo e dedicação. Passados cinco anos desde que ingressei nessa jornada, hoje eu realmente consigo imaginar que estou mais perto do fim.

Durante esses cinco anos, enfrentei mudanças de casa, mudanças de rotina, uma pandemia e um governo que quase assassinou a população brasileira e, de brinde, colocou em risco o que eu e muitos amigos temos feito durante anos de trabalho: a ciência. Confesso que não foi fácil passar por tudo isso e que, durante todo esse tempo, meu maior medo era não conseguir.

Não quero transformar estes agradecimentos em um muro de lamentações, mas entenda que, durante esses cinco anos, tudo o que mais fiz foi me questionar. Questionar minhas certezas. Questionar minhas escolhas. E devo admitir que, durante todo esse tempo, a maior batalha que travei foi me convencer de que eu seria o suficiente para, ao fim de tudo, entregar o presente estudo. Durante todo esse tempo, meu maior medo era a incerteza do doutorado. A incerteza de que todo esse conhecimento não fosse o suficiente. Travei lutas internas, e nunca imaginei os caminhos que minha vida pudesse tomar durante esse tempo.

Esse trabalho é apenas 5% de tudo o que foi produzido. Das amizades conquistadas. Dos amigos perdidos. Dos amores acabados. Da solidão adquirida. E de um recomeçar inesperado. Esse trabalho é, em um primeiro momento, a maior confirmação de que eu sobrevivi à todas as voltas e rasteiras que tive. Dos trabalhos recomeçados. Como diria um pensador contemporâneo, Brino, enquanto eu escrevo esses agradecimentos “Lágrimas caem do céu, vários pingos no papel. É que eu não costumo desistir, faz parte de mim.”

Mas, conforme as tradições, este é um texto de agradecimentos, e assim o farei. Em primeiro lugar, parafraseando Anitta, quero agradecer a mim. Pela persistência e força de vontade. Por ter conseguido resistir. Por não ter desistido. Por ter continuado. Por não ter morrido.

Agradeço também ao professor e meu orientador, João Paulo Longo. Agradeço pela paciência, pela parceria e por ter aceitado a orientação. Obrigado, professor João, tu és incrível. Ao meu coorientador, Rilton Alves de Freitas, que, aos 45 minutos do segundo tempo, aceitou essa orientação e conseguiu guiar o trabalho de maneira brilhante. Admito que, durante todo o doutorado, o meu maior medo era não conseguir chegar até aqui. Vocês foram essenciais. Obrigado. Eu nunca conseguiria sem a ajuda de vocês.

Aos amigos que, antes de qualquer coisa, não quero ser injusto esquecendo alguém, e, por isso, não vou citar nomes. Vocês foram meu equilíbrio. Vocês foram minha família. Vocês acreditaram em mim quando não havia nem um resquício de esperança. Vocês me fizeram querer continuar. Muito obrigado.

Ao grupo de pesquisa da Universidade Federal do Paraná, BIOPOL: sem o apoio de vocês, este trabalho não teria existido. Vocês são incríveis, e não deixem ninguém dizer o contrário. Muito obrigado. Eu encontrei família quando não tive, apoios, amizades. Encontrei nordestinos. Eu me senti em casa desde o primeiro dia que conheci vocês. Amo vocês.

Ao meu grupo de pesquisa da Universidade de Brasília: obrigado pelo café no meio das manhãs; pelos almoços no RU; pelos cigarros fumados entre um experimento e outro. Obrigado pelo apoio emocional e pela amizade. Em especial, Walberson, Isadora e Gabriel. Eu não sei o que seria da minha vida acadêmica durante o doutorado sem a companhia de vocês.

Aos amigos de longa data, que por muito tempo e por toda a vida me deram suporte. Jessica, Fabricio e Ayslan. Eu sinto saudades de vocês, ao mesmo tempo que sinto vocês presentes todos os dias.

Aos amigos curitibanos (mas não curitibanos): Vinicius – minha irmã – e Rafael (obrigado por me apresentar o arco e flecha). Amo vocês.

Agradeço ao Nathan, por ser meu amigo e me segurar em momentos que eu quase caí. Em momentos que não tive forças. Obrigado pelo suporte. Obrigado pelo apoio. Obrigado por nosso tempo. Obrigado por me fazer passar mais de dez minutos escolhendo uma roupa para sair de casa.

Agradeço à minha mãe, Severina Maria da Conceição. Você é a razão de tudo isso. Te amo, pequena.

Aos meus guias espirituais, que nunca me abandonaram e sempre me mostraram o melhor caminho a seguir.

Aos órgãos de fomento, CAPES, FAPDF e CNPq, obrigado pelo financiamento do presente estudo. À Universidade de Brasília e à Universidade Federal do Paraná, muito obrigado.

E antes que eu esqueça, esse doutorado me ensinou que eu consigo ser que eu quiser ser. E mostrou que eu sou sim um pesquisador e um futuro Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia. Talvez a vida acadêmica dê por encerrado aqui. Talvez não. É um até logo. Até breve. Eu sempre vou, talvez, sentir saudades.

RESUMO

A esquistossomose, endêmica em países em desenvolvimento, é tratada principalmente com praziquantel (PZQ), fármaco eficaz, porém com baixa solubilidade, permeabilidade limitada, ineficaz contra formas juvenis e suscetível à resistência. Neste estudo, investigou-se o uso do lignossulfonato — biopolímero anfifílico, sustentável e de origem lignocelulósica — como agente estabilizante em emulsões múltiplas contendo PZQ, visando melhorar solubilidade, permeabilidade, estabilidade e controle de liberação. **Objetivo:** Avaliar o potencial do lignossulfonato como surfactante alternativo e sustentável em formulações do tipo emulsões múltiplas contendo praziquantel. **Metodologia:** O lignossulfonato foi purificado por centrifugação, diálise e seco por *spray dryer*; sendo posteriormente ressuspenso em água e submetido à ultrassonificação. Caracterizações foram realizadas por DLS, FTIR, RMN, NTA e AFM. As propriedades interfaciais foram determinadas por medidas de tensão superficial, interfacial e ângulo de contato. Emulsões a/o/a foram preparadas com óleo de rícino e lignossulfonato em proporções variadas e monitoradas macroscopicamente por 120 dias, e através de análises por microscopia confocal a laser. A incorporação do PZQ (700 mg/g) foi seguida de ensaios de liberação em membranas de diálise. As análises térmicas (DSC e TG) foram realizadas para avaliar interações entre os componentes e a estabilidade térmica do fármaco. Para avaliação da segurança, foi realizado ensaio de citotoxicidade em células Caco-2 utilizando o método do MTT. As células foram cultivadas em DMEM, tratadas com diferentes concentrações das emulsões por 24 h, e posteriormente incubadas com solução de MTT (0,5 mg/mL) por 4 h. O formazan formado foi solubilizado com DMSO, e a absorbância foi lida a 570 nm para determinação da viabilidade celular. **Resultados:** A ultrassonificação reduziu o tamanho das partículas de lignossulfonato de 740,0 nm para 175,7 nm e o PDI de 0,6 para 0,2, mantendo o potencial zeta próximo de -15 mV. As análises de AFM mostraram morfologia esférica, enquanto FTIR e RMN confirmaram a guaiacólica, e as propriedades hidrofílicas foram mantidas. A formulação mais estável foi a de razão 50/50 (m/m) com 5% de lignossulfonato, que permaneceu estável por até 120 dias. A estabilidade foi atribuída ao efeito Pickering, à gelificação induzida pela alta fração volumétrica de óleo (*close packing*). As análises de DSC e TG demonstraram a manutenção da estabilidade térmica do PZQ após incorporação nas emulsões. A liberação do fármaco seguiu uma cinética de primeira ordem, com 17,52% liberado em 2 horas. Os ensaios de MTT indicaram baixa citotoxicidade nas concentrações testadas. **Conclusão:** O lignossulfonato demonstrou ser um estabilizante eficaz e sustentável para emulsões múltiplas contendo praziquantel, promovendo estabilidade prolongada, manutenção da integridade térmica do fármaco e liberação controlada. Os mecanismos de estabilização envolveram efeito Pickering, *close packing* e formação de estruturas viscoelásticas. Apesar dos resultados promissores, estudos adicionais, especialmente *in vivo*, são necessários para validar a eficácia terapêutica e a segurança do sistema.

Palavras-chave: Esquistossomose, Lignossulfonato, Emulsões Múltiplas, Praziquantel.

ABSTRACT

Schistosomiasis, endemic in developing countries, is mainly treated with praziquantel (PZQ), an effective drug but with low solubility, limited permeability, ineffectiveness against juvenile forms, and susceptibility to resistance. In this study, the use of lignosulfonate — an amphiphilic, sustainable, lignocellulosic-derived biopolymer — was investigated as a stabilizing agent in multiple emulsions containing PZQ, aiming to improve solubility, permeability, stability, and controlled release. **Objective:** To evaluate the potential of lignosulfonate as an alternative and sustainable surfactant in multiple emulsion formulations containing praziquantel. **Methodology:** Lignosulfonate was purified by centrifugation, dialysis, and spray-drying, then resuspended in water and subjected to ultrasonication. Characterization was performed using DLS, FTIR, NMR, NTA, and AFM. Interfacial properties were determined by measurements of surface tension, interfacial tension, and contact angle. O/W/O emulsions were prepared with castor oil and lignosulfonate in varying ratios and monitored macroscopically for 120 days, as well as by laser confocal microscopy. PZQ incorporation (700 mg/g) was followed by drug release assays using dialysis membranes. Thermal analyses (DSC and TG) were conducted to assess interactions between components and the thermal stability of the drug. For safety evaluation, cytotoxicity assays were performed in Caco-2 cells using the MTT method. Cells were cultured in DMEM, treated with different concentrations of emulsions for 24 h, and subsequently incubated with MTT solution (0.5 mg/mL) for 4 h. The resulting formazan was solubilized in DMSO, and absorbance was read at 570 nm to determine cell viability. **Results:** Ultrasonication reduced lignosulfonate particle size from 740.0 nm to 175.7 nm and PDI from 0.6 to 0.2, while maintaining zeta potential close to -15 mV. AFM analysis revealed spherical morphology, while FTIR and NMR confirmed guaiacyl structures and preserved hydrophilic properties. The most stable formulation was the 50/50 (w/w) ratio with 5% lignosulfonate, which remained stable for up to 120 days. Stability was attributed to the Pickering effect and gelation induced by the high oil volume fraction (close packing). DSC and TG analyses showed preservation of PZQ thermal stability after incorporation into the emulsions. Drug release followed first-order kinetics, with 17.52% released within 2 hours. MTT assays indicated low cytotoxicity at the tested concentrations. **Conclusion:** Lignosulfonate proved to be an effective and sustainable stabilizer for multiple emulsions containing praziquantel, providing prolonged stability, preservation of drug thermal integrity, and controlled release. Stabilization mechanisms involved the Pickering effect, close packing, and formation of viscoelastic structures. Despite the promising results, further studies, particularly in vivo, are needed to validate the therapeutic efficacy and safety of the system.

Keywords: Schistosomiasis, Lignosulfonate, Multiple Emulsions, Praziquantel.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tabela comparativa dos testes iniciais utilizados para desenvolvimento das emulsões. _____	36
Tabela 2. Tabela comparativa dos resultados de caracterização de diâmetro hidrodinâmico utilizando as distribuições em Intensidade e número, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ) obtidos na ultrassonificação do lignossulfonato _____	45
Tabela 3. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação da emulsão LSCaP.	86
Tabela 4. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação da emulsão LSCaU _____	86
Tabela 5. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação do praziquantel livre. _____	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do ciclo de vida e infecção da <i>Schistosoma mansoni</i> .	16
Figura 2. Representação esquemática das fases aguda e crônica e dos sintomas da esquistossomose.	17
Figura 3. Representação esquemática do mecanismo de ação do Praziquantel	19
Figura 4. Representação esquemáticas dos tipos de emulsões	22
Figura 5. Representação esquemática dos tipos e emulsões.	25
Figura 6. Representação esquemática das emulsões de Pickering.	27
Figura 7. Representação esquemática da estrutura química e autoassociação dos lignossulfonatos.	29
Figura 8. Esquema ilustrando o preparo e análise macroscópica e microscópica das emulsões.	37
Figura 9. Esquema ilustrando o preparo das emulsões utilizando lignossulfonato ultrassonificado.	38
Figura 10. Análise de distribuição de massa molar por SEC do lignossulfonato antes e após purificação.	42
Figura 11. Análise estatística do tamanho das partículas em função do tempo.	46
Figura 12. Estudo de rastreamento de partículas do lignossulfonato livre e ultrassonificado.	48
Figura 13. Estudo das características morfológicas das nanopartículas por microscopia de força atômica.	49
Figura 14. Estudo dos espectros de infravermelho do lignossulfonato.	51
Figura 15. Ressonância Magnética Nuclear dos lignossulfonatos analisados.	53
Figura 16. Isoterma de Gibbs representado pela Tensão superficial de LSCaP e LSCau 30 em função da concentração em 50 mg/ml.	54
Figura 17. Isoterma de Gibbs representado pela Tensão interfacial de LSCaP e LSCau 30 em função da concentração em 50 mg/ml.	56
Figura 18. Ângulo de contato de LSCaP e LSCau 30.	57
Figura 19. Emulsões utilizando lignossulfonato em diferentes frações de óleo de rícino.	59
Figura 20. Estudo macroscópico de microscópio de diferentes concentrações de LSCaP em 50% de óleo de rícino.	61
Figura 21. Estabilidade macroscópica das emulsões estabilizadas com LSCaP em função do tempo.	62

Figura 22. Estabilidade macroscópica das emulsões formuladas com LSCaP com e sem praziquantel. _____	63
Figura 23. Retração da gota de uma solução coloidal aquosa de LSCaP em óleo de rícino. _____	65
Figura 24. Análise de close packing das emulsões formuladas com lignossulfonato purificado. _____	66
Figura 25. Imagens de microscopia de confocal de emulsões utilizando LSCaP 5%, com e sem praziquantel. _____	68
Figura 26. Estabilidade macroscópica das emulsões formuladas com LSCaU 30 com e sem praziquantel. _____	70
Figura 27. Análise de close packing das emulsões formuladas com lignossulfonato ultrassonificado. _____	72
Figura 28. Retração da gota de uma solução coloidal aquosa de LSCaU 30 em óleo de rícino. _____	73
Figura 29. Imagens de microscopia de confocal de emulsões utilizando LSCaU 30 com e sem praziquantel. _____	74
Figura 30. Análise de calorimetria exploratória diferencial. _____	77
Figura 31. Gráfico da análise termogravimétrica. _____	80
Figura 32. Estudo dos espectros de infravermelho da emulsão contendo LSCaU 30 e praziquantel. _____	83
Figura 33. Estudo de liberação do fármaco livre e das emulsões formuladas com LSCaP e LSCaU 30. _____	85
Figura 34. Estudo da viabilidade celular em Caco-2 de LSCaP e LSCaU 30. _____	87
Figura 35. Estudo da viabilidade celular em Caco-2 de Emulsão LSCaP PZQ e Emulsão LSCaU 30 PZQ. _____	89

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Esquistossomose	16
2.2 Praziquantel	18
2.3 Emulsões	21
2.4 Emulsões Múltiplas	23
2.5 Emulsões de Pickering	25
2.6 Lignossulfonatos	28
3. OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Materiais	32
4.2 Obtenção, purificação e caracterização do Lignossulfonato	32
4.2.1 <i>Purificação do lignossulfonato</i>	32
4.2.2 <i>Determinação da massa molar do lignossulfonato</i>	32
4.2.3 <i>Formação de partículas do lignossulfonato</i>	33
4.2.4 <i>Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio e potencial Zeta</i>	33
4.2.5 <i>Análise de Rastreamento de Partículas (NTA)</i>	33
4.2.6 <i>Caracterização morfológica do lignossulfonato e das partículas</i>	33
4.2.7 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR</i>	34
4.2.8 <i>Ressonância Magnética Nuclear</i>	34
4.2.9 <i>Determinação da tensão superficial e interfacial</i>	34
4.2.10 <i>Determinação do Ângulo de contato trifásico</i>	35
4.3 Desenvolvimento e caracterização das emulsões	35
4.3.1 <i>Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato purificado</i>	35
4.3.2 <i>Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato ultrassonificado</i>	37
4.3.3 <i>Análise por Microscópica Confocal com Fluorescência das Emulsões</i>	38
4.3.4 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR</i>	39
4.3.5 <i>Análise térmica do lignossulfonato e das emulsões</i>	39
4.3.6 <i>Determinação de quantificação do fármaco e ensaio de liberação</i>	39
4.4 Atividade biológica	40
4.4.1 <i>Cultura de células</i>	40
4.4.2 <i>Ensaio de viabilidade celular - MTT</i>	41

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Caracterização física e química do lignossulfonato	42
5.1.1 <i>Determinação da massa molar do lignossulfonato bruto e purificado</i>	42
5.1.2 <i>Caracterização de partículas do lignossulfonato após o processo de ultrassonificação</i>	44
5.1.3 <i>Análise de Rastreamento de Nanopartículas (NTA) e Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	47
5.1.4 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	50
5.1.5 <i>Tensão superficial e interfacial do lignossulfonato purificado e ultrassonificado</i>	53
5.1.6 <i>Determinação do Ângulo de contato trifásico</i>	56
5.2 Desenvolvimento e caracterização das emulsões	58
5.2.1 <i>Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato purificado - LSCaP</i>	58
5.2.2 <i>Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato ultrassonificado – LSCaU 30</i>	69
5.2.3 <i>Análise térmica do lignossulfonato e das emulsões</i>	75
5.2.4 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR</i>	81
5.2.5 <i>Determinação de quantificação do fármaco e ensaio de liberação</i>	84
5.3 Atividade biológica	87
5.3.1 <i>Ensaio de viabilidade celular por MTT</i>	87
6. CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS	92

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose, também conhecida como bilharzíase ou popularmente chamada de “barriga d’água”, é uma das doenças tropicais negligenciadas mais prevalentes em países em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 230 milhões de pessoas afetadas por essa enfermidade, enquanto aproximadamente 800 milhões encontram-se sob risco de infecção (De Oliveira et al., 2023).

O tratamento atual da esquistossomose baseia-se exclusivamente no uso do praziquantel (PZQ), um quimioterápico amplamente empregado devido à sua eficácia, baixa toxicidade e efeitos colaterais leves e transitórios (Ministério da Saúde, Brasil; Bergquist et al., 2018). No entanto, o mecanismo de ação do PZQ ainda não é completamente elucidado, e limitações importantes comprometem sua eficiência, como a ineficácia contra formas jovens do parasita e relatos de resistência em algumas cepas do gênero *Schistosoma* (Waechtler et al., 2023). Esses fatores evidenciam a necessidade urgente de desenvolver novas estratégias terapêuticas para superar essas limitações e aprimorar o manejo da doença. Além disso, o PZQ pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), caracterizada por fármacos com baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade. Essa característica, combinada com seu extenso metabolismo de primeira passagem hepático, resulta em uma biodisponibilidade oral limitada. A baixa solubilidade aquosa do PZQ também impacta sua absorção gastrointestinal, especialmente em ambientes com pH elevado, o que pode influenciar a eficácia do tratamento. Essas limitações biofarmacêuticas reforçam a necessidade de desenvolver formulações mais eficazes ou novas abordagens terapêuticas para melhorar os resultados clínicos no combate à esquistossomose.

Entre as alternativas promissoras para potencializar a ação do praziquantel, destacam-se as emulsões múltiplas, devido às suas características estruturais únicas e propriedades funcionais avançadas. Essas emulsões são formadas pela inversão de fase de uma emulsão simples, resultando em sistemas nos quais gotículas menores são encapsuladas dentro de gotículas maiores, que, por sua vez, estão dispersas em uma fase contínua. Essa configuração permite a proteção de substâncias bioativas, a incorporação de diferentes compostos em compartimentos separados e a liberação controlada e sustentada de ativos (Suñer et al., 2017; Ding et al., 2019). Tais propriedades tornam as emulsões múltiplas particularmente atrativas para aplicações farmacêuticas e cosméticas, proporcionando soluções inovadoras para desafios relacionados à estabilidade de formulações e à liberação de fármacos.

Contudo, a estabilização dessas emulsões frequentemente requer o uso de surfactantes moleculares, cuja aplicação em altas concentrações podem ser limitada devido à toxicidade e a

preocupações ambientais. Dessa forma, a busca por alternativas sustentáveis e menos tóxicas para estabilização de emulsões é uma necessidade crescente. Nesse contexto, os produtos naturais têm ganhado destaque na indústria biotecnológica e farmacêutica, especialmente devido à sua compatibilidade biológica e ao baixo impacto ambiental (Daniotti, et al., 2021; Pham et. al., 2019).

Entre os biopolímeros naturais, lignossulfonatos e ligninas se destacam como o segundo biopolímero mais abundante na natureza. Os lignossulfonatos, derivados da quebra da rede de lignina durante o processo de polpação ao sulfito da madeira, apresentam natureza anfifílica e são amplamente utilizados em aplicações como plastificantes, dispersantes e estabilizadores (Yang et al., 2007). Suas propriedades são determinadas pelo comportamento em soluções aquosas, bem como em superfícies e interfaces, fatores influenciados pela sua composição química (Matsuhita et al., 2005). Apesar de seu potencial como surfactantes, estudos sobre o uso de lignossulfonatos em aplicações biológicas ainda são limitados.

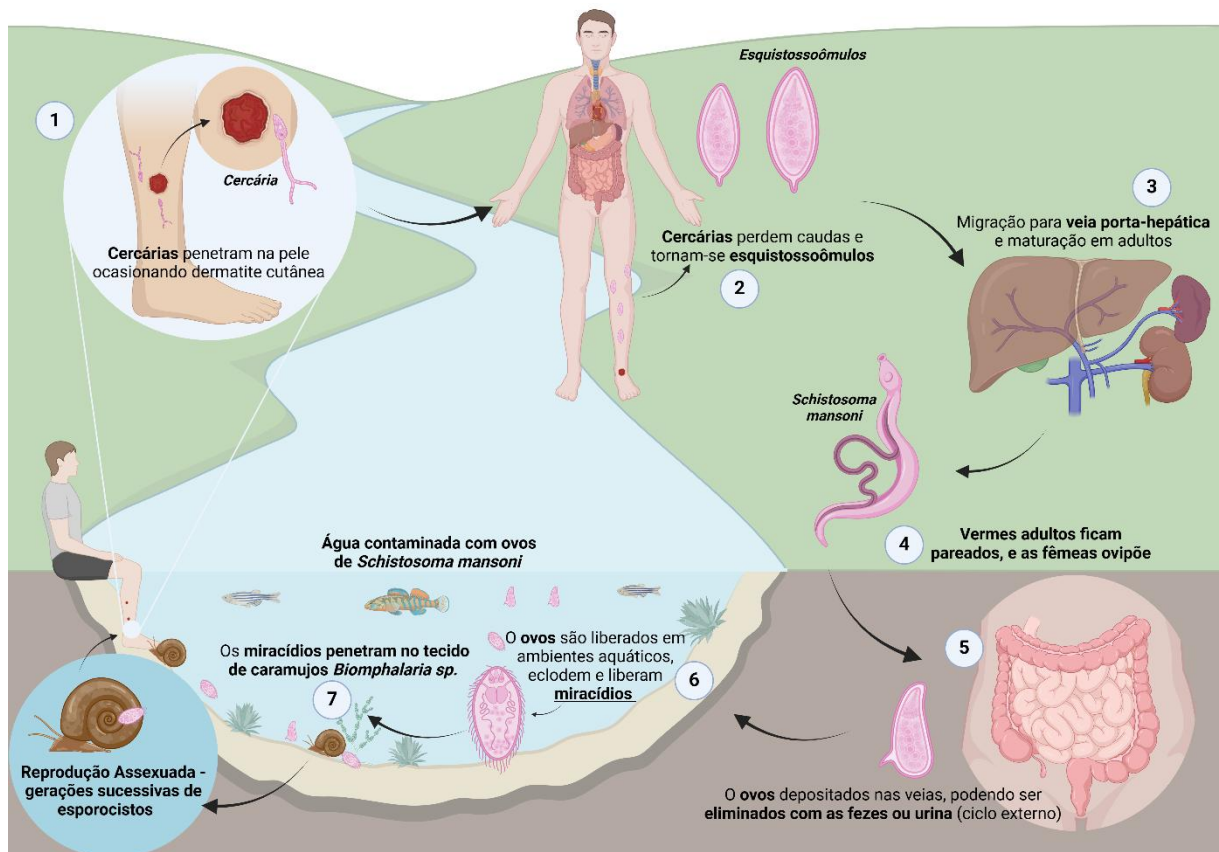
Diante desse cenário, esta tese busca explorar o uso de lignossulfonato como surfactante alternativo e sustentável na formulação de emulsões múltiplas contendo praziquantel para administração oral. Espera-se que esse estudo contribua para o desenvolvimento de sistemas mais eficazes, seguros e ambientalmente responsáveis para o tratamento da esquistossomose, ampliando as possibilidades terapêuticas no enfrentamento dessa doença negligenciada.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Esquistossomose

A esquistossomose, também designada bilharzíase, popularmente conhecida como “barriga d’água”, é uma das doenças negligenciadas tropicais mais recorrentes nos países em desenvolvimento (Turner et al., 2017). Podendo se manifestar de forma aguda ou crônica, a esquistossomose é uma infecção causada por diferentes espécies de parasitas do gênero *Schistosoma* (LEGER et al., 2017). Esta infecção ocorre quando há uma penetração cutânea das formas larvais do parasita, denominadas cercárias, que provocam urticária temporária, podendo persistir por dias com lesões papulopruriginosas (GRYSEELS et al., 2006) (figura 1).

Figura 1. Representação esquemática do ciclo de vida e infecção da *Schistosoma mansoni*.



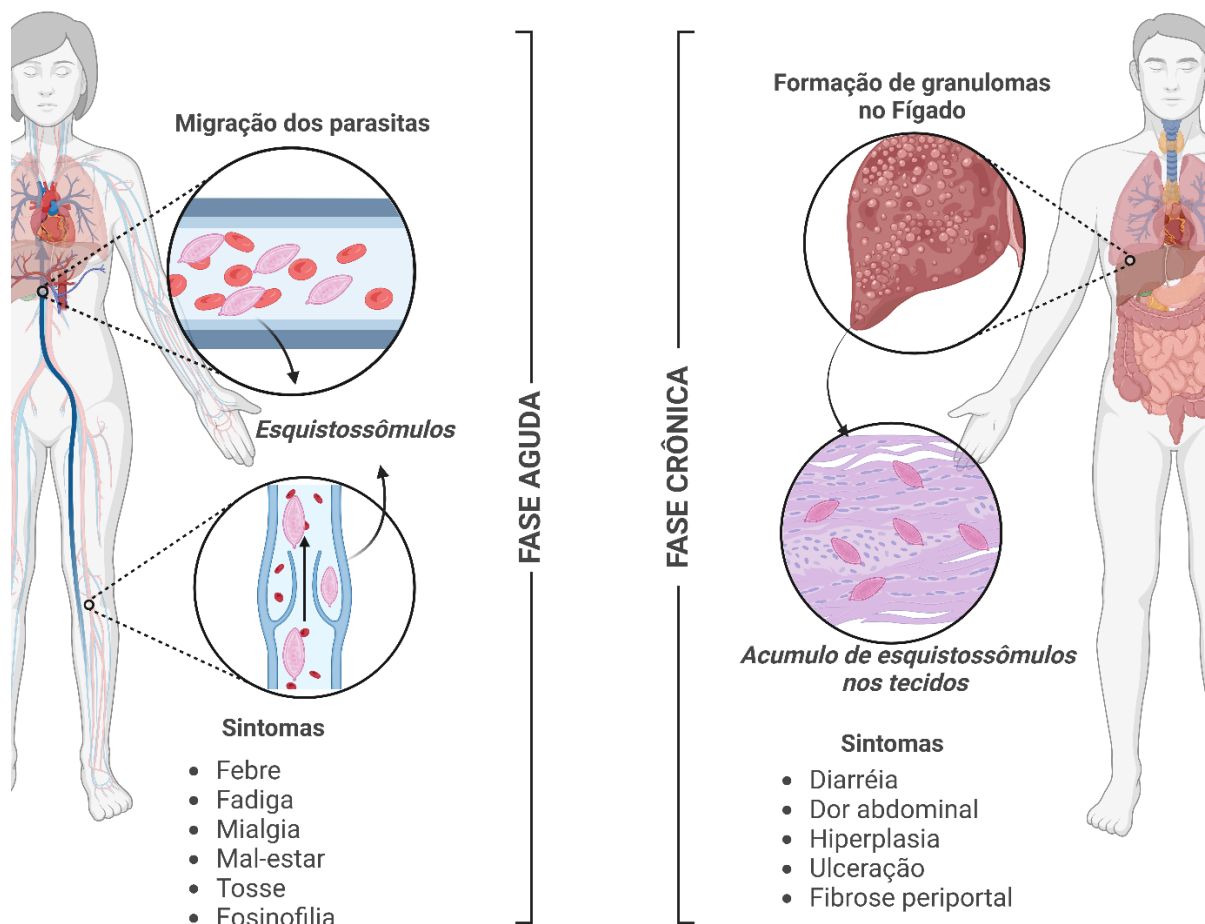
Fonte: Autoria própria.

A esquistossomose aguda é uma condição sistêmica desencadeada por uma reação de hipersensibilidade à migração dos parasitas no hospedeiro humano (Barsoum et al., 2013). Esse quadro pode se desenvolver semanas ou meses após a infecção, com sintomas abruptos, incluindo febre, fadiga, mialgia, mal-estar, tosse, eosinofilia e infiltrados pulmonares

irregulares. Apesar da gravidade inicial, a maioria dos pacientes apresenta recuperação em um período de 2 a 10 semanas (Barsoum et al., 2013; Elbaz et al., 2013) (figura 2).

A fase crônica da esquistossomose, por outro lado, resulta da retenção de ovos do parasita nos tecidos do hospedeiro, o que desencadeia uma reação granulomatosa em resposta aos antígenos secretados pelos ovos (Gryseels et al., 2006). Essa reação imune, embora inicialmente protetora, pode levar à formação de granulomas crônicos, especialmente no fígado, que evoluem para fibrose ao longo do tempo (Chen et al., 2017). Os sintomas da forma crônica incluem diarreia, dor abdominal, hiperplasia, ulceração, formação de microabscessos e polipose, sendo a gravidade diretamente relacionada à intensidade da infecção e à resposta imunológica do hospedeiro (Inobaya et al., 2014; Gryseels et al., 2006) (figura 2).

Figura 2. Representação esquemática das fases aguda e crônica e dos sintomas da esquistossomose.



Fonte: Autoria própria.

Mundialmente, estima-se que a esquistossomose afete cerca de 250 milhões de pessoas, com mais de 700 milhões vivendo em áreas endêmicas, distribuídas em 78 países (WHO, 2023).

Crianças em idade pré-escolar são desproporcionalmente afetadas, apresentando prevalência elevada em relação a outras faixas etárias, e essa situação persiste devido à ausência de tratamentos pediátricos adequados (Osakunor et al., 2018). Essa lacuna no manejo da doença em crianças compromete os esforços de controle em regiões endêmicas.

Nas Américas, o Brasil concentra a maioria dos casos registrados, com uma estimativa de 2 milhões de pessoas infectadas distribuídas em 19 estados (De Oliveira et al., 2023). Destes, segundo o Ministério da Saúde, a esquistossomose está presente com maior intensidade em áreas ao longo de todo o litoral da região Nordeste, partindo do Rio Grande do Norte em direção ao sul, incluindo áreas quentes e úmidas dos estados, passando pela Bahia (BA) e chegando a Minas Gerais (MG) na região Sudeste (De Oliveira et al., 2023).

O tratamento atual para a esquistossomose baseia-se exclusivamente no praziquantel (PZQ), um agente quimioterápico eficaz e amplamente utilizado (Colley et al., 2014). Embora seu mecanismo de ação ainda não esteja completamente elucidado, o PZQ apresenta baixa toxicidade e efeitos colaterais leves e transitórios, sendo considerado um padrão-ouro no manejo da doença (Ministério da Saúde, Brasil; da Silva et al., 2017). Contudo, a eficácia do PZQ é limitada por sua inatividade contra formas jovens do parasita, uma desvantagem significativa (Vale et al., 2017). Além disso, há relatos crescentes de resistência ao PZQ em algumas cepas de *Schistosoma*, o que destaca a necessidade urgente de novas estratégias terapêuticas (Kasinathan et al., 2014).

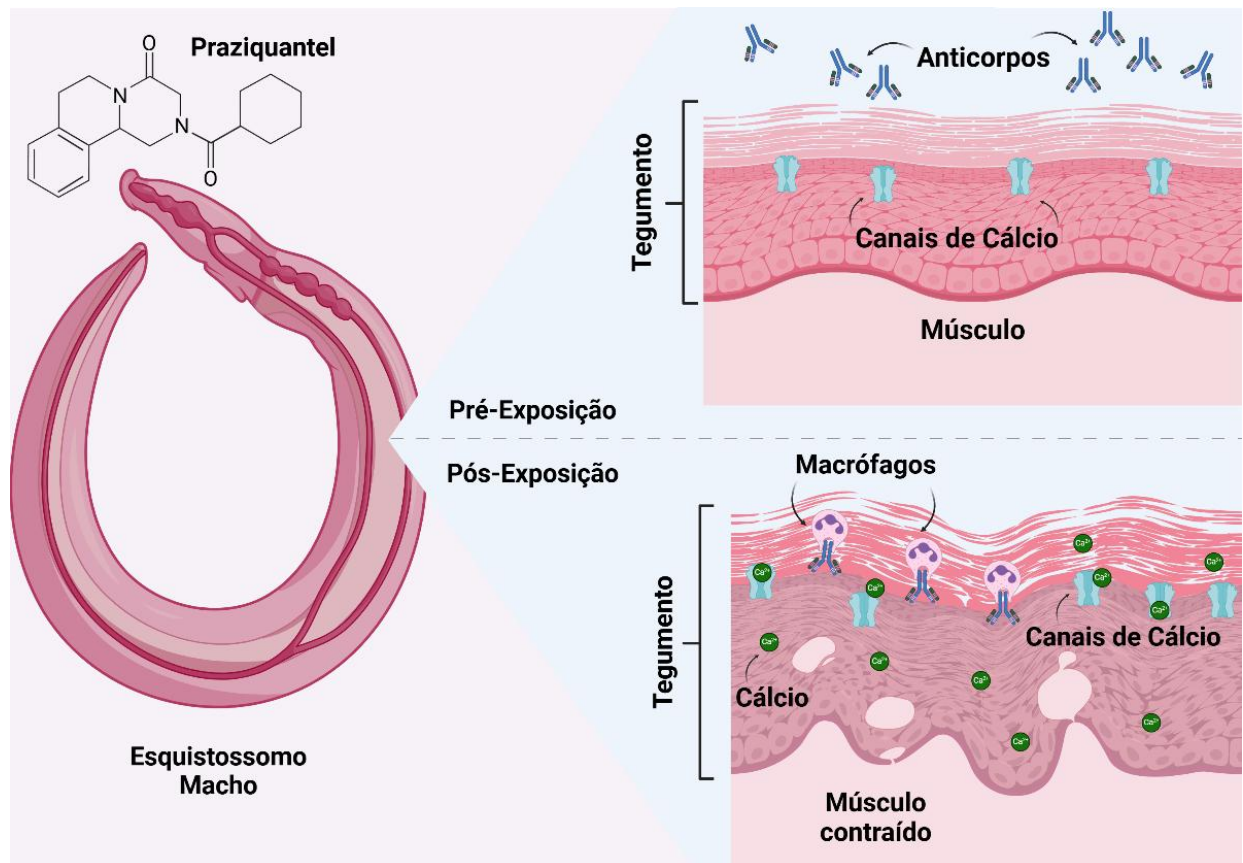
2.2 Praziquantel

A estratégia mais eficaz para o controle da esquistossomose é o tratamento farmacológico (Spangenberg, 2021), baseado no uso do anti-helmíntico praziquantel (PZQ), implementado por meio de programas de administração em massa em regiões endêmicas. Esses tratamentos são realizados em intervalos de 6 a 12 meses, devido às altas taxas de reinfecção. Administrado em dose oral única (40-60 mg/kg), o PZQ demonstra eficácia contra todas as espécies do gênero *Schistosoma* que infectam humanos. Além disso, o fármaco também apresenta ação contra cestódeos, incluindo espécies como *Taenia*, *Echinococcus*, *Mesocestoides*, *Dipylidium* e *Hymenolepis*. O PZQ é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, o que explica sua eficácia no tratamento da neurocisticercose (Olliaro et al., 2014). Adicionalmente, é altamente eficaz no manejo de doenças causadas por trematódeos de origem alimentar, como paragonimíase, clonorquíase e opistorquíase.

O mecanismo de ação do PZQ ainda não foi completamente elucidado, ainda assim estudos indicam que sua principal ação consiste em aumentar a permeabilidade da membrana

tegumentar dos parasitas a íons cálcio (Ca^{2+}) resultando em um influxo descontrolado desses íons (Thomas et al., 2020). Esse evento desencadeia contrações musculares sustentadas e paralisia espástica, comprometendo a capacidade do parasita de se fixar às paredes dos vasos sanguíneos (Aragon et al., 2009) (figura 3).

Figura 3. Representação esquemática do mecanismo de ação do Praziquantel



Fonte: Autoria própria.

Embora o influxo de cálcio seja considerado um evento-chave, estudos indicam que esse fator isolado não explica totalmente sua atividade esquistossomicida. Abordagens transcriptômicas revelaram respostas associadas ao estresse oxidativo e identificaram genes envolvidos na regulação do cálcio e no metabolismo aeróbico (Crellen et al., 2016). A proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina tipo II (CamKII) tem emergido como um potencial alvo terapêutico no mecanismo de ação do PZQ (You et al., 2013). Além disso, o fármaco parece interferir na bicamada lipídica do tegumento, possivelmente inibindo a atividade da esfingomielinase, o que pode comprometer a reprodução do parasita ao impedir a liberação de óvulos (Nogueira et al., 2022; Rinaldi et al., 2015).

Consequentemente, o parasita torna-se mais vulnerável à eliminação pelo sistema imunológico do hospedeiro. Além disso, o PZQ provoca danos significativos ao tegumento do parasita, expondo antígenos normalmente ocultos e intensificando a resposta imunológica mediada por macrófagos e eosinófilos (Nogueira et al., 2022). Outros efeitos metabólicos secundários, como alterações no metabolismo energético e na homeostase celular, também contribuem para a eliminação do parasita (Niu et al., 2022).

Apesar de sua eficácia na redução da morbidade associada à esquistossomose, o PZQ apresenta limitações. Classificado como um fármaco de Classe II pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB) (Benet et al., 2011), o PZQ possui baixa solubilidade em água ($\log P$ 3,9), o que afeta sua formulação, absorção e biodisponibilidade. Além disso, o fármaco apresenta um alto metabolismo de primeira passagem e rápida eliminação da corrente sanguínea, resultando em uma curta meia-vida biológica no soro (0,8-1,5 horas) (Coli e Pica-Mattocchia, 2003).

Ademais, é importante ressaltar que atualmente o PZQ está disponível na forma de comprimido, exigindo doses elevadas (40-60 mg/kg) para alcançar eficácia terapêutica, o que torna o tratamento de crianças particularmente desafiador. Apesar da recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS) de tratar crianças em idade pré-escolar, não existem formulações adequadas para incluir essa população em programas de tratamento em larga escala (WHO, 2021). O PZQ é administrado como uma mistura racêmica, composto pelos enantiômeros (R)-PZQ e (S)-PZQ, sendo que a atividade farmacológica é predominantemente atribuída ao (R)-PZQ (Vale et al., 2018). Isso implica que apenas metade do composto administrado é efetivamente ativo, enquanto o (S)-PZQ, além de ser inativo, contribui para efeitos colaterais, sabor desagradável e aumento desnecessário do tamanho dos comprimidos, fatores que afetam negativamente a adesão ao tratamento (Olliaro et al., 2014). Embora a separação dos enantiômeros seja uma solução potencial, o processo é economicamente inviável para produção em larga escala (Timson, 2020).

Adicionalmente, embora o PZQ esteja incluído na Lista Modelo de Medicamentos Essenciais para Crianças (WHO, 2021), não há uma formulação pediátrica apropriada para facilitar sua administração. Este cenário é agravado pelo fato de a esquistossomose ser uma doença negligenciada, caracterizada por baixos investimentos da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, devido à sua associação com populações em situação de pobreza. Assim, a criação de sistemas inovadores capazes de otimizar o desempenho do PZQ, reduzindo efeitos colaterais e aumentando sua biodistribuição, apresenta-se como uma medida indispensável para o controle efetivo da doença.

Entre as tecnologias disponíveis para superar esses desafios, as emulsões têm se destacado em pesquisas farmacêuticas e biotecnológicas (Dhaval et al., 2022; Kale et al., 2017; Collins-Gold et al., 1990). Esses sistemas, caracterizados por sua capacidade de encapsular compostos lipofílicos, oferecem benefícios como maior estabilidade, controle na liberação de fármacos e possibilidade de mascarar sabores desagradáveis. Em particular, as emulsões múltiplas, como as do tipo água em óleo em água (a/o/a), permitem a encapsulação simultânea de diferentes substâncias em compartimentos segregados, proporcionando maior flexibilidade no desenvolvimento de formulações complexas e adaptadas às necessidades específicas, como as associadas ao tratamento pediátrico da esquistossomose.

Nesse contexto, o uso de emulsões como sistemas de liberação e administração de fármacos representa uma abordagem inovadora para enfrentar as limitações atuais do PZQ. Além de potencializar sua eficácia clínica, esses sistemas podem melhorar a adesão terapêutica e facilitar a inclusão de populações vulneráveis, como crianças, em programas de tratamento em larga escala, contribuindo significativamente para o combate à esquistossomose e outras doenças negligenciadas.

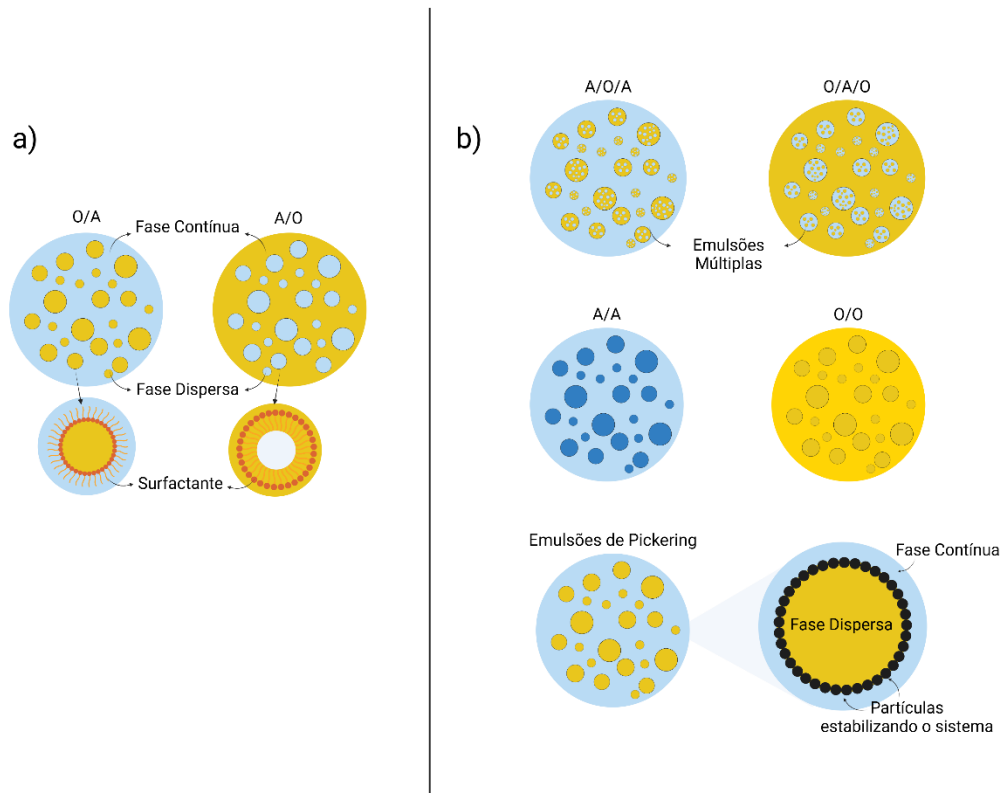
2.3 Emulsões

Emulsões são sistemas heterogêneos compostos por duas fases líquidas imiscíveis, em que uma fase está dispersa na outra sob a forma de pequenas gotículas, geralmente preparadas com a aplicação de energia externa, como sonicação ou homogeneização (Tan et al., 2021). Esses sistemas apresentam ampla relevância científica e tecnológica devido à sua versatilidade e presença em diversos setores industriais, como alimentos, cosméticos, produtos farmacêuticos e tintas (Dhaval et al., 2022). De forma geral, as emulsões podem ser classificadas em dois grupos principais: convencionais e não convencionais (Hazt et al., 2023), sendo essa distinção fundamentada na estrutura e composição do sistema, além dos métodos de estabilização empregados (figura 4.a-b).

As emulsões convencionais são formadas por duas fases líquidas imiscíveis, com uma delas dispersa na outra sob a forma de gotículas, e sua estabilidade é garantida pelo uso de surfactantes ou tensoativos (Zembyla et al., 2020). Os tipos mais comuns incluem emulsões óleo em água (o/a), nas quais gotículas de óleo estão dispersas em uma fase aquosa contínua, e água em óleo (a/o), em que gotas de água são dispersas em uma matriz oleosa. A estabilidade desses sistemas é determinada, principalmente, pela redução da tensão interfacial proporcionada pelos surfactantes e pela presença de barreiras estéreas ou eletrostáticas que evitam a coalescência, promovendo um estado de metaestabilidade (Kumar et al., 2022). A

formação do tipo específico de emulsão depende de fatores como a proporção das fases, a temperatura e a natureza dos emulsificantes utilizados (Sousa, et al., 2022). Conforme a nomenclatura, a fase dispersa é indicada primeiro, seguida pela fase contínua; assim, uma emulsão A/O é composta por gotículas de água distribuídas em uma matriz oleosa (figura 4.a).

Figura 4. Representação esquemáticas dos tipos de emulsões



Legenda: Representação esquemáticas dos tipos e emulsões. **a:** emulsões convencionais; **b:** emulsões não convencionais. Fonte: Autoria própria.

Em contraste, as emulsões não convencionais representam sistemas mais complexos, caracterizados por estruturas diferenciadas ou mecanismos alternativos de estabilização, podendo ser classificadas em emulsões múltiplas; emulsões óleo-em-óleo (O/O); emulsões água-em-água (A/A); micro e nanoemulsões (Hazt et al., 2023; Silva et al., 2022). A estabilidade dessas dispersões é frequentemente garantida pelo uso de agentes emulsificantes ou partículas (emulsões de Pickering), que reduzem a tensão interfacial entre as fases e inibem processos de separação, como coalescência e sedimentação (Cosgrove, 2010). Devido à sua complexidade, o estudo dessas emulsões envolve uma abordagem interdisciplinar, combinando princípios de físico-química, ciência de materiais e engenharia de processos. Outro exemplo relevante são as emulsões Pickering, estabilizadas por partículas sólidas, como sílica ou

celulose, que promovem maior resistência contra processos de coalescência e envelhecimento físico (Yali et al, 2022) (figura 4.b).

Dentre os diferentes tipos de emulsões, as emulsões múltiplas se destacam por suas características estruturais únicas e propriedades funcionais avançadas, tornando-se de especial interesse em áreas como a administração de fármacos (Suñer et al., 2017). Esses sistemas são formados pela inversão de fase de uma emulsão simples, resultando em uma estrutura na qual gotículas menores estão encapsuladas dentro de gotículas maiores, que, por sua vez, estão dispersas na fase contínua (Ding et al., 2019). Tal configuração permite a proteção de substâncias bioativas, a incorporação de diferentes compostos em compartimentos distintos e a liberação sustentada dos ativos incorporados. Essas propriedades tornam as emulsões múltiplas promissoras para aplicações terapêuticas e cosméticas, oferecendo soluções inovadoras para desafios em liberação controlada e estabilidade de formulações.

2.4 Emulsões Múltiplas

Emulsões múltiplas são plataformas versáteis para encapsulamento químico de ingredientes com diferentes polaridades ou solubilidades, modelagem de materiais multifásicos e uma variedade de outras funções (Yandrapali et al., 2024). Ferramentas de processamento comumente usadas (como dispositivos microfluídicos e emulsificação sequencial) proporcionam controle preciso sobre o número, tamanho e composição das gotículas encapsuladas, o que abre um vasto espaço de design morfológico para gotículas multifásicas internamente estruturadas e partículas coloidais produzidas a partir delas (Chong et al., 2015; Iqbal et al., 2015).

Em aplicações atuais, as emulsões múltiplas têm se mostrado promissoras para aprimorar o desempenho de emulsões convencionais e sistemas coloidais. Elas oferecem vantagens devido à sua estrutura líquida multifásica única e versatilidade química, permitindo aplicações onde podem superar os coloides tradicionais. Por exemplo, sua capacidade de formar estruturas ordenadas abre caminho para seu uso no desenvolvimento de metamateriais. Esses materiais artificiais possuem propriedades físicas extraordinárias, como índice de refração negativo ou manipulação avançada de ondas, alcançadas por meio do design preciso de suas microestruturas. No caso das emulsões múltiplas, variações periódicas na constante dielétrica ou no módulo elástico de suas fases líquidas internas poderiam ser exploradas para criar metamateriais altamente avançados. Com uma complexidade interna quase arbitrária, essas estruturas poderiam ser projetadas para aplicações em óptica, acústica ou tecnologias avançadas de manipulação de energia (Sheth et al., 2020).

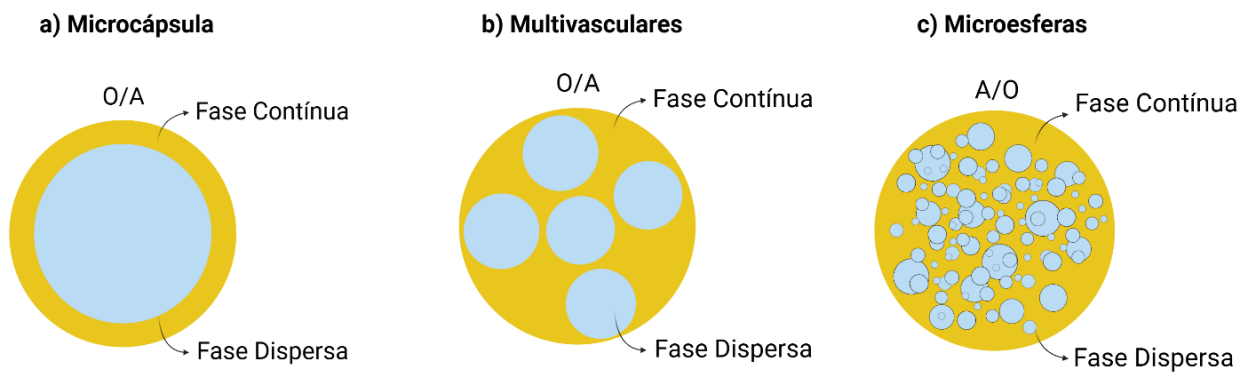
Novos materiais de encapsulamento e entrega podem ser desenvolvidos que dependem do inchamento e desinchaço de emulsões múltiplas como uma rota para controlar a transferência de massa de moléculas ativas para dentro ou para fora das gotículas. Além disso, combinações com diferentes técnicas podem ser utilizadas simultaneamente para modelar ou estruturar as partículas coloidais internamente pode levar a uma gama inteira de novas partículas coloidais estruturadas internamente para separações, catálise e fotônica (Sheth et al., 2020; Ogawa et al., 1988).

De acordo com a literatura, emulsões múltiplas podem ser classificadas com base no número de gotículas de água inseridas nas gotículas de óleo: a) microcápsulas: apenas uma gotícula de água incluída em uma gota de óleo da fase externa; b) multivasculares: caracterizadas pela presença de múltiplas gotículas menores de uma fase interna dispersas dentro de uma gota maior da fase contínua; c) microesferas: especialmente no caso de sistemas A/O/A, onde a fase aquosa interna contém o ativo a ser encapsulado, e a matriz polimérica forma a fase sólida após um processo de polimerização ou solidificação (figura 5) (Ding et al., 2019; Florence et al., 1981).

Entretanto, embora as emulsões múltiplas sejam versáteis e aplicáveis em diversas áreas, suas "gotículas duplas" tendem a se desestabilizar rapidamente, transformando-se em emulsões simples. Isso pode ser visto como um estado de transição instável entre as emulsões tradicionais – água em óleo (A/O) e óleo em água (O/A) (Perazzo et al., 2018). A instabilidade intrínseca dessas emulsões é explicada por fatores físicos, que incluem a pressão osmótica e a pressão de Laplace (Aserin, 2007).

Diferenças nas concentrações de soluto entre a fase interna e a fase contínua (relacionadas à pressão osmótica) provocam a migração de água, buscando um equilíbrio das pressões osmóticas. Como resultado, ocorre o inchaço das gotículas internas quando a pressão osmótica externa é superior, ou o encolhimento quando esta pressão é inferior (Lea-Banks et al., 2019). Adicionalmente, a pressão de Laplace, que depende do tamanho das gotículas e da tensão superficial, gera uma pressão interna elevada nas gotículas menores. Esse fenômeno resulta do desejo das moléculas na interface de minimizar a área superficial. A diferença de pressão interna é um fator que contribui para o colapso estrutural das emulsões duplas, levando à ruptura e à eventual separação de fases.

Figura 5. Representação esquemática dos tipos e emulsões.



Fonte: Adaptado de Ding et al., 2019.

Adicionalmente, o amadurecimento de Ostwald também é um fator determinante da instabilidade (Singh et al., 2017). Durante esse processo, gotículas menores, com maior pressão interna, tendem a encolher, enquanto gotículas maiores crescem, contribuindo para o aumento do tamanho médio das gotículas ao longo do tempo. Esse efeito, combinado com a coalescência, resulta na separação de fases e na diminuição da área interfacial total, reduzindo a energia do sistema (Zhao et al., 2022).

Embora essas características tornem as emulsões múltiplas frágeis, elas podem ser exploradas como vantagens em aplicações específicas, especialmente para controle da liberação de materiais encapsulados em resposta à pressão osmótica. Assim, a estabilidade dessas emulsões pode ser aumentada pela adição de surfactantes à fase contínua (Pontrellei et al., 2020). Esses compostos anfífilos adsorvem-se na interface óleo/água, reduzindo a tensão interfacial ao posicionar seus grupos hidrofílicos na água e os hidrofóbicos no óleo. Apesar disso, a ancoragem dos surfactantes moleculares é limitada por um equilíbrio térmico entre adsorção e dessorção, o que pode levar à gradual coalescência das emulsões (Ren et al., 2019; Rosen et al., 2012; Yaqoob et al., 2006).

Uma alternativa promissora para aumentar a estabilidade é o uso de partículas sólidas. Essas partículas são capazes de estabilizar emulsões simples ou múltiplas por períodos mais longos, formando o que são conhecidas como emulsões de Pickering. A adsorção irreversível dessas partículas na interface óleo/água impede a coalescência das gotículas, oferecendo uma solução robusta e sustentável para superar as limitações das emulsões tradicionais.

2.5 Emulsões de Pickering

As emulsões de Pickering são sistemas específicos de emulsão estabilizados por partículas sólidas, em substituição aos surfactantes tradicionais (Wu et al., 2016; Ramsden,

1904). Podendo ser ajustadas quanto à composição, tamanho e funcionalização da superfície, essas partículas adsorvem-se irreversivelmente na interface óleo-água. Essa adsorção forma uma barreira física que impede a coalescência das gotículas, garantindo maior estabilidade ao sistema (Chiappini et al., 2015). Tal abordagem proporciona vantagens relevantes em termos de estabilidade e sustentabilidade, além de abrir novas possibilidades de aplicação em setores como o farmacêutico, alimentício e cosmético.

As aplicações das emulsões de Pickering abrangem diferentes áreas. Na indústria farmacêutica, elas são usadas em sistemas de liberação controlada, protegendo ativos sensíveis e promovendo sua liberação prolongada (Tai et al., 2020). Na indústria alimentícia, as emulsões permitem o desenvolvimento de produtos mais estáveis e saudáveis, como molhos e bebidas, sem surfactantes artificiais (Chen et al., 2020). No setor cosmético, são utilizadas para formulações de longa duração e maior estabilidade, como cremes e loções (Guzmán et al., 2020).

Desde os primeiros relatos sobre emulsões de Pickering, o mecanismo pelo qual ocorre a estabilização das emulsões vem sendo investigado. Sendo relacionado a redução interfacial entre as duas fases da emulsão, é relatado na literatura que para se obter emulsões de Pickering estáveis, o fator-chave é a molhabilidade das partículas, que pode ser caracterizado pelo ângulo de contato θ na interface óleo-partícula-água (Chevalier et al., 2013) (figura 6).

Em linhas gerais, partículas com $\theta < 90^\circ$ apresentam características hidrofílicas imergindo na fase aquosa, induzindo a formação de emulsões óleo-água. Para a obtenção de emulsões água-óleo partículas com $\theta > 90^\circ$ devem ser usadas, onde essas terão uma maior molhabilidade na fase oleosa. Ademais, a estabilização das emulsões de Pickering é regida pela energia necessária para dessorver partículas esféricas da interface, descrita pela equação:

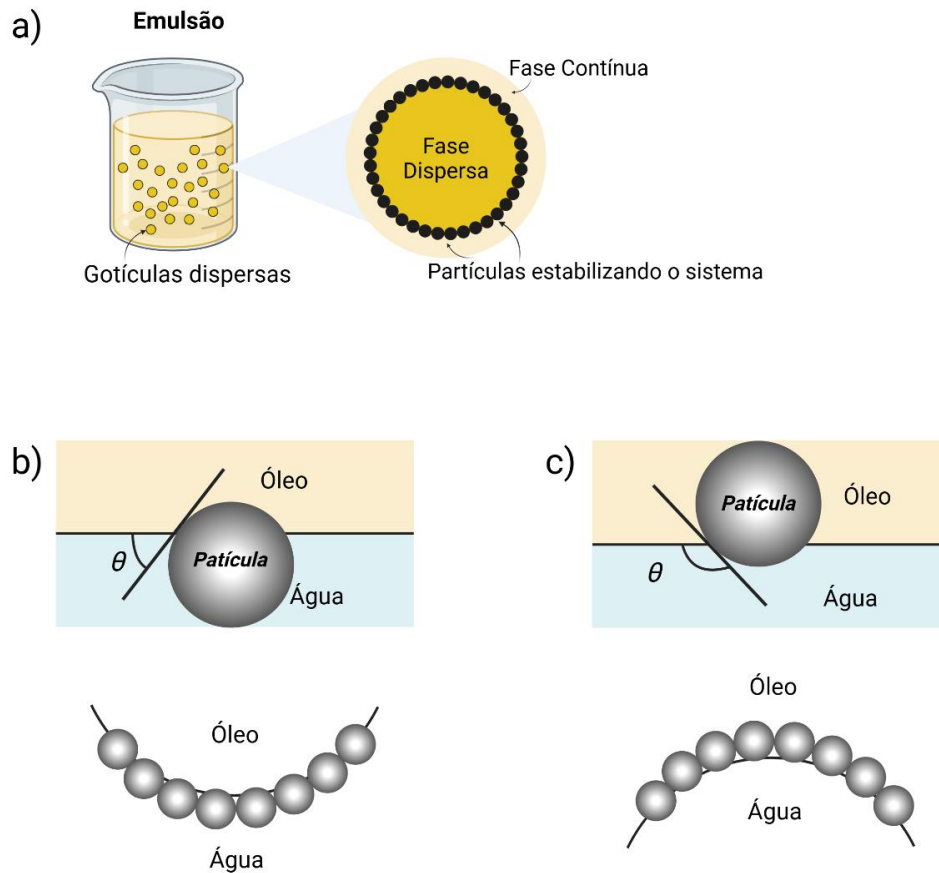
$$\Delta G = \pi r^2 \gamma_{ow} (1 - |\cos\theta|)^2$$

Nesta equação, ΔG representa a energia de adsorção, r é o raio da partícula, γ_{ow} é a tensão interfacial óleo-água; e θ é o ângulo de contato da partícula na interface (de Carvalho-Guimarães et al., 2022; Ortiz, et al., 2020; Low et al., 2020).

Quando comparadas à emulsões estabilizadas por surfactantes moleculares, emulsões de Pickering apresentam propriedades únicas: a) a energia de dessorção de partículas sólidas da interface água/óleo é várias ordens de magnitude maior do que a energia térmica (k_bT), resultando em uma adsorção irreversível desses surfactantes na interface, contribuindo para a estabilidade das emulsões (Yang et al., 2017; Aveyard, Binks, & Clint, 2003); b) As partículas sólidas podem ser desenvolvidas a partir de materiais biocompatíveis, demonstrando uma baixa

toxicidade – quando comparada com surfactantes moleculares (Albert et al., 2019; Yang et al., 2017); c) As partículas sólidas podem ser projetadas para desempenhar diversas funções dentro das emulsões de Pickering, como respostas a mudanças de pH, temperatura e até mesmo fototerapias (Rodriguez et a., 2020; Hao et al., 2018).

Figura 6. Representação esquemática das emulsões de Pickering.



Legenda. Emulsões de Pickering. **a:** estabilização de uma emulsão pelo efeito Pickering; **b:** ângulo de contato e molhabilidade das partículas de acordo com a ângulo de contato. Fonte: Autoria própria.

As emulsões de Pickering podem ser estabilizadas por uma ampla variedade de partículas sólidas, destacando-se polímeros naturais como alginato (Lim et al., 2020; Yan et al., 2019), argilominerais (Do Amaral et al., 2023; Sieben et al., 2022), proteínas (Machado et al., 2023; Hazt et al., 2020; Yan et al., 2020; Shi et al., 2020), celulose (Dong et al., 2021; Dai et al., 2020), quitosana (Sharkawy et al., 2020; Wang et al., 2016), amido (Xu et al., 2020; Zhu et al., 2019), goma arábica (Wei et al., 2019; Sharkawy et al., 2019), goma do cajueiro (Cardial et al., 2019; Richter et al., 2018), lignina (Dai et al., 2019; Sipponen et al., 2017), lignossulfonatos (Ruwolt, 2022; Fan et al., 2021) e polissacarídeos de algas (Meng et al., 2024; Wang et al., 2024). Esses materiais oferecem flexibilidade para diferentes aplicações e objetivos específicos.

Entre os polímeros mencionados, os lignossulfonatos merecem atenção especial por serem subprodutos abundantes e renováveis da indústria de papel e celulose. Além de serem econômicos, os lignossulfonatos apresentam potencial para uso como surfactantes coloidais em aplicações biotecnológicas (Khajeh et al., 2024; Aro & Fatehi, 2017). Contudo, apesar desse potencial, a maior parte dos lignossulfonatos produzidos é simplesmente queimada como combustível, o que representa uma subutilização desse recurso valioso (Wurzer et al., 2022).

2.6 Lignossulfonatos

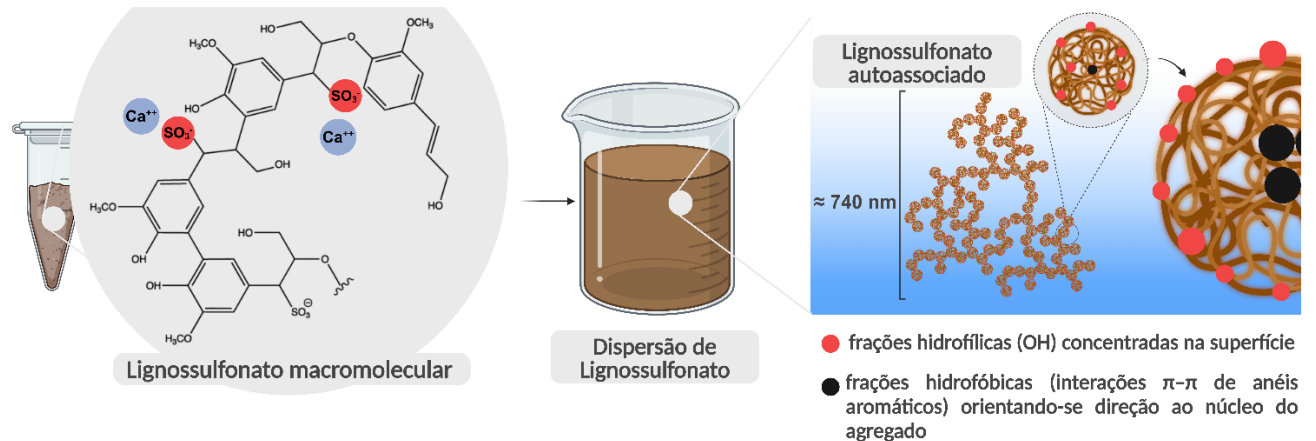
Os lignossulfonatos são derivados sulfonados da lignina, um dos principais polímeros estruturais presentes nas plantas vasculares. Obtidos como subprodutos do processo de polpação química na indústria de papel e celulose, especialmente pelo método sulfito, os lignossulfonatos representam uma fração altamente solúvel da lignina (Wang et al., 2022). Sua estrutura complexa e heterogênea é formada por unidades fenilpropanóides conectadas por ligações éter e carbono-carbono, com grupos sulfonato adicionados durante o processo químico, conferindo-lhes elevada hidrossolubilidade e atividade superficial (Ruwoldt, 2020).

Estruturalmente, os lignossulfonatos refletem características da lignina nativa modificadas pelo processo de polpação sulfito (Wang et al., 2022). Apesar de a configuração química básica ser em parte preservada, novas ligações carbono-carbono são formadas e grupos sulfonato e carboxílicos são introduzidos – modificações ausentes na estrutura inicial da lignina (Tang et al., 2023). Essa heterogeneidade estrutural faz com que os lignossulfonatos sejam mais bem descritos como uma mistura polidispersa de macromoléculas, cuja composição pode variar entre diferentes amostras ou até mesmo dentro de uma mesma amostra (Ruwoldt, 2022). Por isso, são frequentemente tratados como entidades estatísticas, em vez de compostos químicos com estrutura bem definida.

Os lignossulfonatos são caracterizados como polieletrólitos poliaromáticos ramificados aleatoriamente, com alta solubilidade em água e comportamento anfifílico semelhante ao de surfactantes moleculares (Deng et al., 2010). Sua hidrofílicidade é atribuída à presença de grupos aniônicos, como sulfonato e carboxilato, além de grupos hidroxila fenólicos que se tornam mais relevantes em pH elevado (Yan et al., 2010). Paralelamente, as frações hidrofóbicas, formadas por unidades aromáticas alifáticas e grupos residuais contendo oxigênio, conferem equilíbrio entre as propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas, determinando suas características interfaciais (Ensing et al., 2019; Holmberg, 2001). Estudos de Myrvold e colaboradores (2016) também revelaram a boa solubilidade dos lignossulfonatos em solventes

como etilenoglicol, propilenoglicol, dimetilsulfóxido (DMSO) e em misturas de metanol-água ou dioxano-água contendo mais de 20% de água (figura 7).

Figura 7. Representação esquemática da estrutura química e autoassociação dos lignossulfonatos.



Fonte: Autoria própria.

Em solução aquosa, os lignossulfonatos se comportam como polieletrólitos ramificados, formando estruturas esféricas oblatas (Ruwoldt, 2022). Sua agregação e autoassociação ocorrem principalmente nas regiões hidrofóbicas centrais, enquanto os grupos aniônicos se projetam para o meio, promovendo interações específicas como repulsão eletrostática, interações π - π e ligações de hidrogênio (Piccinino et al., 2021; Deng et al., 2012). Fenômenos como expansão de polieletrólitos e autoassociação são influenciados por fatores como pH, força iônica, temperatura e presença de solventes orgânicos. Por exemplo, aumentos na força iônica, redução do pH ou elevação da temperatura podem promover maior agregação, alterando significativamente o comportamento conformacional dos lignossulfonatos (Tang et al., 2015; Quian et al., 2014; Vainio et al., 2012) (figura 7).

As propriedades únicas dos lignossulfonatos, como alta capacidade de adsorção, afinidade por água e óleo e comportamento dispersante, tornam-nos valiosos para uma ampla gama de aplicações. Eles têm sido amplamente utilizados na estabilização de emulsões e dispersões coloidais, além de serem componentes importantes em aditivos para concreto (Breilly et al., 2021), tintas (Han et al., 2024), pesticidas (Weiss et al., 2020) e processos biotecnológicos (Gao et al., 2017). Os mecanismos para estabilização da dispersão foram relatados como introdução de repulsão eletrostática, impedimento esteérico, estabilização de partículas (emulsão Pickering) e a formação de camadas de interface viscoelásticas. Além disso,

segundo a *European Food Safety Authority*, o lignossulfonato demonstrou ser seguro em níveis de até 10.000 mg/kg quando utilizado como suplementos de ração para animais.

Por serem derivados de um recurso renovável e abundante, os lignossulfonatos apresentam benefícios ambientais e econômicos significativos. Seu uso destaca a valorização e o *upcycling* de subprodutos industriais, alinhando-se à tendência crescente em sustentabilidade e no desenvolvimento de ingredientes cosméticos e farmacêuticos mais verdes, além de oferecer alternativas viáveis aos derivados de petróleo. Assim, consolidam-se como uma plataforma promissora para inovações em materiais e tecnologias sustentáveis.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso de lignossulfonato como um surfactante alternativo, verde e sustentável na formulação de emulsões múltiplas contendo praziquantel para administração oral.

3.2 Objetivos Específicos

- Purificar e caracterizar o lignossulfonato utilizando metodologias como: espectroscopia na região do infravermelho (FTIR); espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) e potencial Zeta;
- Caracterizar o lignossulfonato de acordo com o tamanho hidrodinâmico médio, potencial Zeta, índice de polidispersão (PDI), concentração de partículas e morfologia;
- Avaliar o processo de ultrassonificação na formação e dispersão do lignossulfonato;
- Verificar se existe uma variação nos valores de tensão superficial, interfacial e ângulo de contato do lignossulfonato em forma molecular e particulado;
- Verificar a interferência da razão lignossulfonato/óleo de rícino, sobre o processo de formação e estabilização das emulsões;
- Avaliar o perfil de estabilidade térmica do lignossulfonato, óleo de rícino e das emulsões formadas através de análises termogravimétricas;
- Avaliar através de microscopia de confocal o aspecto microscópico das emulsões e elucidar o mecanismo de estabilização;
- Avaliar a cinética de liberação da emulsão de óleo de rícino e praziquantel através de ensaios de liberação *in vitro*;
- Avaliar o perfil citotóxico em células Caco-2 do lignossulfonato e das emulsões.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Para purificação do lignossulfonato cálcio, o lignossulfonato bruto foi doado pela MC Química. Para a formulação das emulsões, foi utilizado óleo de rícino (**INCI Name: *Ricinus communis* (Castor) seed oil**), da empresa Sigma-Aldrich; Água purificada (condutividade $\leq 1,3 \mu\text{S cm}^{-1}$ a 25 °C) e ultrapurificada (condutividade $\leq 0,055 \mu\text{S cm}^{-1}$ a 25 °C) foram obtidas por purificador de água MilliQ (Millipore, EUA).

4.2 Obtenção, purificação e caracterização do Lignossulfonato

4.2.1 Purificação do lignossulfonato

Inicialmente, o lignossulfonato de cálcio foi disperso em solução aquosa de azida de sódio (NaN_3) a $0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, na proporção 1:3 (m/v), e mantido sob agitação por 20 minutos. Em seguida, a dispersão foi centrifugada a $5000 \times g$ por 15 minutos, utilizando uma centrífuga modelo LabConser (Brasil). O sobrenadante obtido foi submetido à diálise contra água purificada utilizando membrana de celulose com porosidade de 12–14 kDa (Sigma-Aldrich, EUA) por 24 horas, com trocas periódicas de água.

Após a diálise, o material retido na membrana foi seco por atomização (Spray Dryer LM MSD 1.0, LabMaq, Brasil) sob as seguintes condições: temperatura de entrada de 190 °C, vazão de ar de $30 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ e vazão de alimentação da amostra de $0,3 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. O pó seco obtido foi coletado e armazenado em frasco apropriado sob refrigeração (2 a 8 °C) até sua utilização.

4.2.2 Determinação da massa molar do lignossulfonato

O perfil de eluição das amostras foi determinado por cromatografia de exclusão por tamanho (do inglês *Size Exclusion Chromatography* - SEC), utilizando espalhamento estático de luz laser multiângulo (inglês *Multi-Angle Light Scattering* - MALS; Wyatt Technology, EUA) e detectores de índice de refração (do inglês *Refractive Index* - RI; Waters 2410, EUA). A cromatografia foi realizada em um sistema Waters contendo quatro colunas de permeação em gel embaladas com Ultrahidrogel[®] 2000, 500, 250 e 120, conectadas em série, com limites de exclusão de 7×10^6 , 4×10^5 , 8×10^4 e $5 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$, respectivamente. O eluente empregado foi uma solução aquosa de NaNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) contendo $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de NaN_3 na vazão de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$, a 25 °C. A amostra de LSCa, previamente filtrada em membrana de acetato de celulose com abertura de poro de $0,22 \mu\text{m}$ (Filtrilo, Brasil), foi injetada ($100 \mu\text{L}$) na concentração de $21 \mu\text{mol L}^{-1}$. O valor de dn/dc utilizado foi o de $0,192 \text{ mL g}^{-1}$ (Fredheim; Braaten; Christensen, 2002). Os dados de SEC foram coletados e processados no *software* Wyatt Technology

ASTRA, versão 4.70.07, para obtenção dos valores de massa molecular. Os gráficos foram elaborados utilizando o *software* OriginPro 8.5.

4.2.3 Procedimento de formação de partículas de lignossulfonato por ultrassonificação controlada

Para a formação das partículas de lignossulfonato, 200 mg de lignossulfonato purificado (LSCaP) foi pesado e solubilizado em 4 ml de água purificada (para que atingisse uma concentração de 5% m/v). Posteriormente, foi submetido a uma agitação magnética constante (1 minuto) para completa solubilização. Posteriormente, o lignossulfonato foi ultrassonificado em um ultrassom de ponta em diferentes tempos, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 segundos, a uma amplitude de 40%. É importante ressaltar que foi utilizado um banho de gelo quando durante a ultrassonificação.

4.2.4 Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio e potencial Zeta

As medidas de tamanho hidrodinâmico médio e do potencial Zeta do lignossulfonato e das partículas de lignossulfonato foram obtidas em triplicata através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering–DLS) em equipamento Malvern Zetasizer Nano. A dispersão de luz foi realizada usando as seguintes condições: dispersante: água purificada (25 °C), temperatura: 25 °C; calibração: 60; medição: 173; runs: 30. Para realização das leituras as amostras foram diluídas em uma proporção de 1/100 em água purificada.

4.2.5 Análise de Rastreamento de Partículas (NTA)

Após a purificação e formação das partículas do lignossulfonato pelos protocolos descritos anteriormente, o ensaio de rastreamento de partículas foi realizado utilizando uma diluição de 1/100. Para isso, foi utilizado o equipamento de *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) modelo Nanosight, no Instituto Carlos Chagas (ICC) – Fiocruz Paraná. O equipamento Nanosight permite a análise rápida e automatizada da distribuição de tamanho e concentração de partículas, com diâmetro entre 10 nm e 2 µm. Após diluídas, 1 ml de cada amostra foi injetada em velocidade constante e pré-determinada pelo aparelho. É importante ressaltar que todas as análises foram realizadas em triplicatas – o tempo de cada leitura teve duração de 1 minuto.

4.2.6 Caracterização morfológica do lignossulfonato e das partículas

A Microscopia de Força Atômica foi realizada utilizando o equipamento Agilent – modelo 5500 no modo contato intermitente, com pontas TED PELLA (TAP300-G10) em uma frequência de amplitude de 237.06 kHz. As nanopartículas foram diluídas na proporção de 1:10 (v/v), em água purificada, posteriormente foi retirada uma alíquota de 10 µL e depositada em

uma superfície de silício, deixada por 15 minutos em temperatura ambiente para a secagem. O programa Gwyddion 2.45, foi utilizado para tratar as imagens e obter o tamanho das nanopartículas.

4.2.7 Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR

Os espectros de FTIR foram obtidos a partir do lignossulfonato bruto e do lignossulfonato purificado. Os registros foram efetuados em cristal ATR (reflexão total atenuada) em um FTIR Thermo Scientific SMART OMNI-SAMPLER Nicolet iS10. A técnica citada é utilizada na identificação de grupamentos químicos característicos que absorvem na região de 500 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . Para a realização das análises foram utilizados 256 scans por amostra.

4.2.8 Ressonância Magnética Nuclear

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio (^1H) e de carbono 13 (^{13}C) foram realizadas em espectrofotômetro DRX 400 Avance (Bruker, Alemanha) em tubos de 5 mm de diâmetro. As amostras foram dispersadas em D_2O ($252,3\ \mu\text{mol L}^{-1}$). Os espectros foram obtidos a $70\text{ }^\circ\text{C}$ e os deslocamentos, em ppm, foram determinados utilizando-se acetona como padrão interno. Os deslocamentos da acetona utilizados para calibração do espectro foram de 2,22 ppm e 30,89 ppm, de acordo com Babij *et al.* (2016). Os espectros de RMN ^1H foram obtidos na frequência base de 400,13 MHz. Os espectros representados no trabalho foram adquiridos na forma de RMN bidimensional - HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*), elaborados e analisados com o auxílio do programa TopSpin 4.4.1 (Bruker, Alemanha).

4.2.9 Determinação da tensão superficial e interfacial

As análises de tensiometria foram realizadas para determinar o comportamento e parâmetros de superfície do lignossulfonato purificado (LSCaP) e do lignossulfonato ultrassonificado por 30 segundos (LSCaU 30). Para isso, os experimentos foram conduzidos em tensiômetro Contact Angle System OCA 15 (Dataphysics Instruments GmbH, Germany) utilizando o software SCA20.

O método empregado foi o de gota pendente, que compreende a determinação do formato da gota, seguido pelo ajuste para a equação de Young-Laplace. As análises foram realizadas a $20\text{ }^\circ\text{C}$ na interface água/ar e água óleo, usando dispersões de LSCaP e LSCaU 30 de 0,25 a 150 mg/ml em água purificada (50 mg – 0,1 mg). O tempo de análise de gota pendente foi definido experimentalmente e fixado em 30 s. A tensão superficial para cada ponto

compreendera leituras em quintuplicata e análise em triplicata verdadeira; os resultados foram expressos como média da tensão superficial (mN m^{-1}) \pm SD.

4.2.10 Determinação do Ângulo de contato trifásico

O lignossulfonato purificado (LSCaP) e, subsequentemente, LSCaU 30 liofilizado (100 mg) foram prensados em pequenas pastilhas de 13 mm com uma superfície lisa por uma unidade de prensa em escala de laboratório, aplicando uma pressão de 10 toneladas (estudos anteriores realizados com outras partículas no grupo de pesquisa BIOPOL, demonstraram que a alteração da pressão entre 5 e 10 toneladas não afetam a formação de pastilhas, (Machado et al., 2023)). O método de gota séssil estática foi usado para medir o ângulo de contato trifásico (θ_{wo}) do lignossulfonato purificado e das partículas usando um tensiômetro (*DataPhysics Instruments GmbH Contact Angle System OCA 15, Filderstadt, Alemanha*). As pastilhas fabricadas foram colocadas no fundo de um recipiente contendo óleo de rícino, e gotículas de água ultrapura (8 μL) foram formadas por uma agulha, colocadas em contato com a superfície da pastilha, e então a agulha foi retraída. A imagem da gota foi registrada usando uma câmera equipada com uma lente macro, e θ_{wo} foi medido pelo software SCA20 dez segundos após a retração da agulha.

Os resultados foram a média de três experimentos replicados em diferentes locais em ambas as superfícies das pastilhas. Testes preliminares foram conduzidos utilizando diferentes massas de pó e aplicando diferentes pressões durante a prensa das pastilhas, o que não induziu alterações significativas nos resultados (Machado et al., 2023).

4.3 Desenvolvimento e caracterização das emulsões

4.3.1 Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato purificado

Para o desenvolvimento das emulsões, foram utilizados apenas três componentes: óleo de rícino, água purificada e lignossulfonato purificado. Inicialmente, foram testadas diferentes proporções de óleo de rícino e água, variando também a concentração de lignossulfonato. O objetivo dessa etapa foi avaliar como a variação dessas proporções influenciava na formação e estabilidade das emulsões. A Tabela 1 apresenta o planejamento experimental adotado, com uma massa total padronizada de 4 gramas para cada emulsão.

Tabela 1. Tabela comparativa dos testes iniciais utilizados para desenvolvimento das emulsões.

LIGNOSSULFONATO	ÓLEO/ÁGUA		
	30% / 70%	50% / 50%	70% / 30%
0,50%	✓	--	--
1,00%	✓	✓	--
3,00%	✓	✓	✓
5,00%	✓	✓	✓
10,0%	✓	✓	✓

Legenda: As emulsões foram preparadas com três proporções óleo/água (30/70, 50/50 e 70/30, em massa) e cinco concentrações de lignossulfonato (0,5%, 1%, 3%, 5% e 10%). As células marcadas com “✓” indicam os testes realizados; as células em branco indicam condições não testadas. A massa total de cada emulsão foi de 4 g.

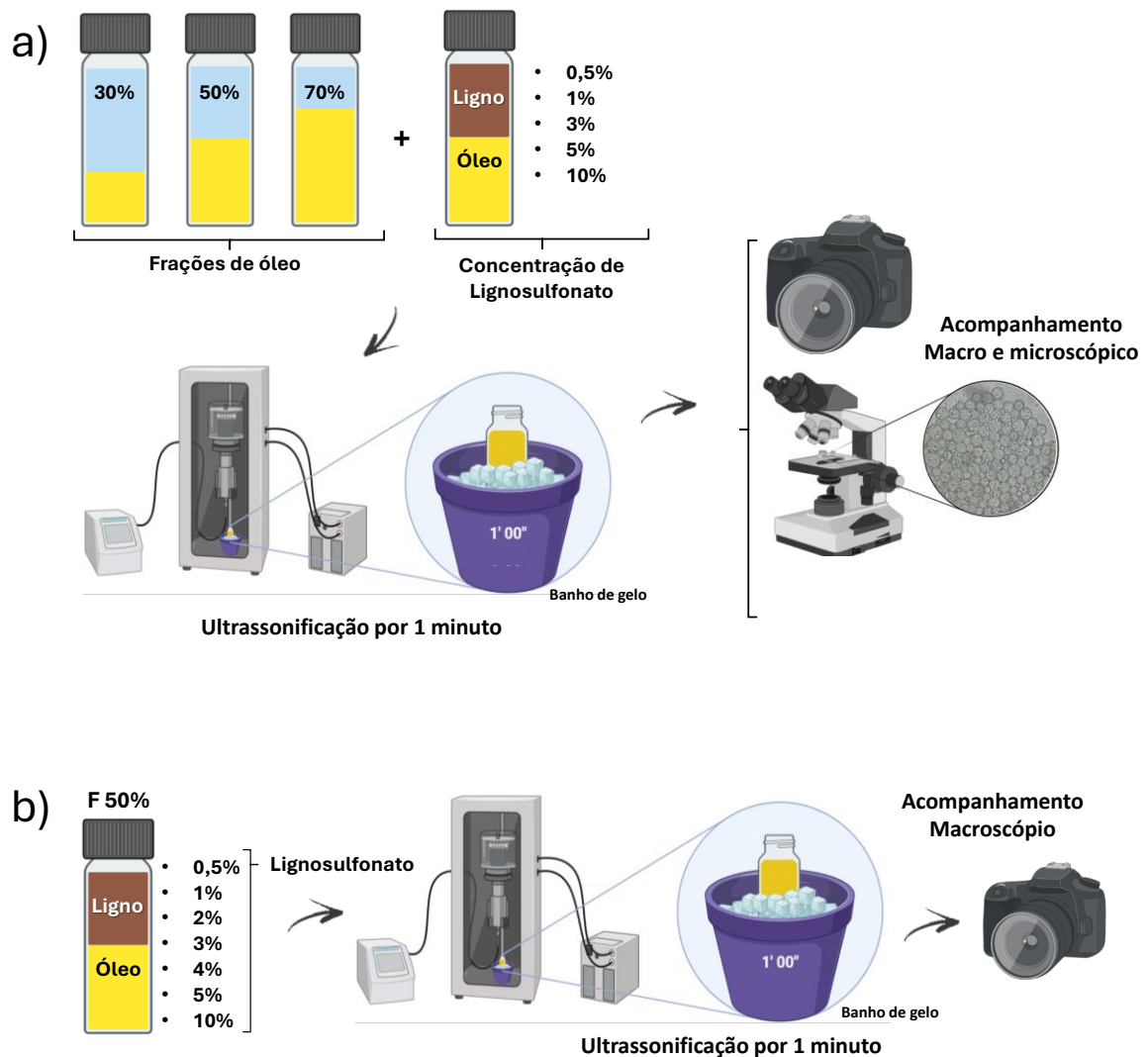
As fases oleosas (óleo de rícino) e aquosa (água purificada) foram pesadas de acordo com as proporções desejadas: 30%/70% (F-30), 50%/50% (F-50) e 70%/30% (F-70), sempre totalizando 4 gramas. O lignossulfonato purificado foi então solubilizado em água ultra purificada, e adicionado às misturas nas diferentes concentrações mencionadas.

Cada formulação foi submetida à ultrassonicação com sonda por 60 segundos, um único ciclo, a uma frequência de 40%, utilizando-se um banho de gelo para controlar o aumento de temperatura durante o processo.

Após a preparação, a estabilidade das emulsões foi monitorada ao longo do tempo por meio de análises macroscópicas e microscópicas, com registro fotográfico em intervalos determinados (Figura 8.a). Com base nesses resultados, foi selecionada a proporção de óleo de rícino que apresentou melhor desempenho – F50%. Em seguida, essa formulação foi novamente preparada com diferentes concentrações de lignossulfonato, com o objetivo de identificar a concentração mais eficaz para promover a estabilidade da emulsão (Figura 8.b).

Após a seleção da formulação mais estável, foram conduzidos novos testes incorporando o praziquantel (PZQ). Para isso, adicionou-se 70 mg de PZQ por grama de óleo de rícino presente na formulação (por exemplo, para 1 g de óleo, foram utilizados 0,070 g de PZQ). O PZQ foi incorporado diretamente ao óleo previamente pesado, sendo a mistura submetida à agitação magnética (aproximadamente 250 rpm) até completa solubilização do fármaco. Em seguida, a emulsão foi preparada conforme o protocolo previamente estabelecido.

Figura 8. Esquema ilustrando o preparo e análise macroscópica e microscópica das emulsões.



Legenda: Desenvolvimento das emulsões utilizando LSCaP. **a:** testes iniciais utilizando diferentes frações de óleo de rícino; **b:** metodologia utilizada para emulsões utilizando 50% de óleo de rícino.

4.3.2 Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato ultrassonificado

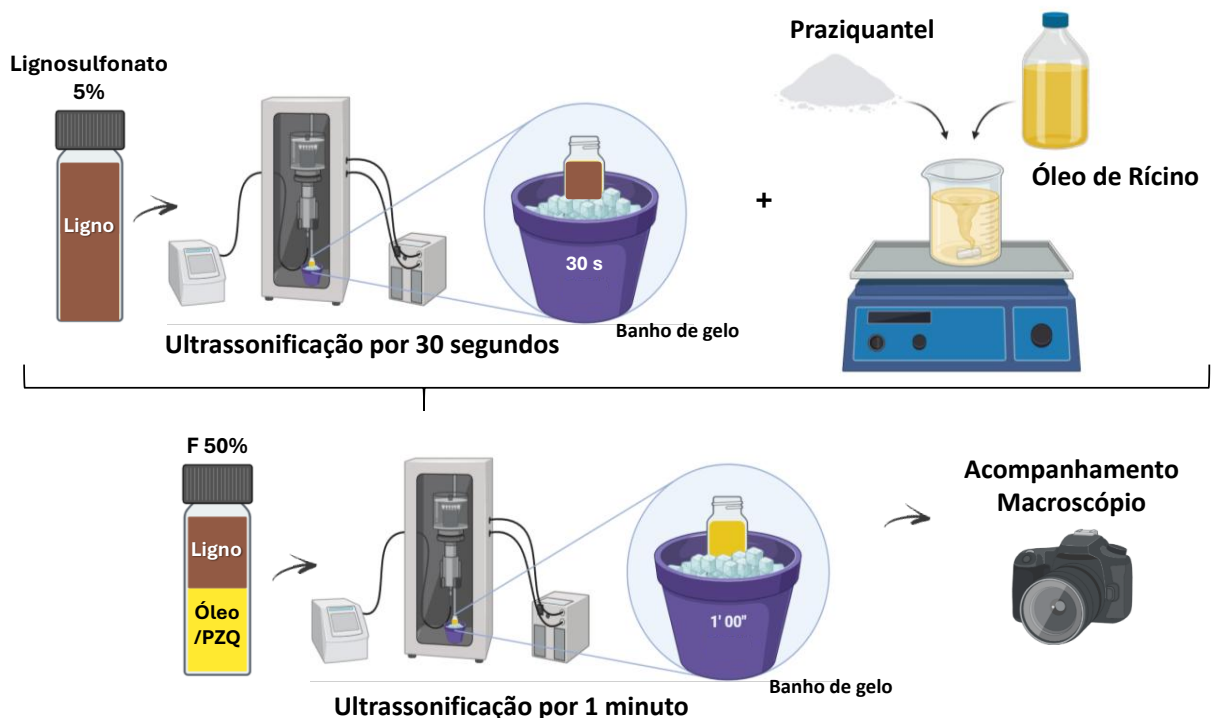
A partir das observações macroscópicas e microscópicas realizadas em diferentes intervalos de tempo (com registros fotográficos documentados), verificou-se que a amostra F-50, contendo 5% de lignossulfonato, apresentou melhor desempenho na emulsificação do óleo de rícino. Essa formulação foi capaz de incorporar uma maior quantidade de fase oleosa sem apresentar separação de fases a curto prazo.

Com base nesse resultado, foi proposta uma modificação no processo: o lignossulfonato foi previamente submetido à ultrassonicação por 30 segundos, com o objetivo de avaliar se essa etapa adicional influenciaria as características físicas e a estabilidade das emulsões.

As novas formulações foram preparadas mantendo-se a proporção da amostra F-50 (50% óleo de rícino / 50% água, m/m), utilizando ultrassom de ponta por 60 segundos, conforme descrito anteriormente. Para as emulsões contendo praziquantel (PZQ), foram adicionados 70 mg de PZQ por grama de óleo de rícino (exemplo: para 1 g de óleo, foram utilizados 0,070 g de PZQ). Após a pesagem do óleo, o PZQ foi incorporado e a mistura foi submetida à agitação magnética (aproximadamente 250 rpm) até completa solubilização do fármaco.

As emulsões obtidas foram monitoradas quanto à estabilidade ao longo do tempo, por meio de avaliação visual e registros fotográficos em tempos previamente definidos (Figura 9).

Figura 9. Esquema ilustrando o preparo das emulsões utilizando lignossulfonato ultrassonificado.



Fonte: Autoria própria.

4.3.3 Análise por Microscópica Confocal com Fluorescência das Emulsões

As imagens de microscopia confocal de varredura a laser (CLSM) das emulsões foram obtidas usando um microscópio confocal a laser Nikon® (modelo A1R MP+) com coloração de partículas por Rodamina (10 ppm) e a fase aquosa por Fluoresceína (5 ppm) em ampliações de 200x, 600x e 1800x 1 hora após a produção (Amaral, Freitas, & Wypych, 2020). De acordo com testes preliminares, a adição de fluoróforos não alterou o comportamento e a estabilidade das emulsões.

4.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR

Os espectros de FTIR foram obtidos a partir do lignossulfonato, do praziquantel, de misturas contendo lignossulfonato, óleo de rícino e praziquantel e das emulsões formadas. Os registros foram efetuados em cristal ATR (reflexão total atenuada) em um FTIR Thermo Scientific SMART OMNI-SAMPLER Nicolet iS10. A técnica citada é utilizada na identificação de grupamentos químicos característicos que absorvem na região de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.3.5 Análise térmica do lignossulfonato e das emulsões

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi empregada para avaliar a compatibilidade e a dispersibilidade do praziquantel (PZQ) dentro dos excipientes, analisando os componentes individuais, misturas físicas e a formulação final da emulsão. As misturas físicas foram preparadas em proporções equimassivas. A análise DSC foi conduzida usando um DSC-60 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão) com aproximadamente 5 mg de amostra colocada em painéis de alumínio. As medições foram realizadas sob uma atmosfera de nitrogênio (vazão: 50 mL/min) a uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, cobrindo uma faixa de temperatura de 25 a 200 $^{\circ}\text{C}$. A aquisição e integração de dados foram realizadas usando o software TA (Shimadzu, Kyoto, Japão), e as curvas térmicas foram plotadas com OriginPro (OriginLab Corp., Northampton, MA, EUA).

A análise termogravimétrica (TGA) foi conduzida para avaliar a estabilidade térmica e o perfil de degradação do PZQ, seus excipientes, misturas físicas e a formulação final das emulsões. A análise foi realizada usando um DTG-60H (Shimadzu, Kyoto, Japão) com aproximadamente 5 mg de amostra colocada em painéis de platina. As medições foram conduzidas sob uma atmosfera de nitrogênio (vazão: 50 mL/min) com uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, cobrindo uma faixa de temperatura de 25–500 $^{\circ}\text{C}$. O processamento de dados foi realizado usando o software TA (Shimadzu, Kyoto, Japão), e as curvas térmicas foram plotadas no OriginPro (OriginLab Corp., Northampton, MA, EUA).

4.3.6 Determinação de quantificação do fármaco e ensaio de liberação

O PZQ foi quantificado seguindo um método bioanalítico usando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de fase reversa com detecção ultravioleta (Mengarda & Iles et al., 2025). As amostras foram analisadas por Shimadzu HPLC (Kyoto, Japão), modelo LC 20-AD, equipado com detector de arranjo de diodos (SPD-20A), bomba (LC-20AT), desgaseificador (DGU-20A3), injetor manual (modelo CBM-20A). A linearidade ($y = 131505x + 327761$; $r^2 = 0,996$) foi determinada na faixa de 0,3 – 200 mg L^{-1} , onde y é a área do pico e x é a concentração

do fármaco em $\mu\text{g mL}^{-1}$. O comprimento de onda usado para detecção foi 210 nm. A fase estacionária foi uma coluna de fase reversa Symmetry C18 ($250 \times 4,5 \text{ mm} \times 5 \mu\text{m}$). As fases móveis consistiram em 55% de água e 45% de acetonitrila operando a uma vazão de $0,7 \text{ mL min}^{-1}$. O método apresentou um tempo de retenção adequado para identificação do fármaco (7.40 min) com um limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) de 0,07 e 0,21 mg L^{-1} , respectivamente. A análise dos dados brutos e as integrações de pico foram realizadas usando o software LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japão).

Para o estudo de liberação *in vitro*, 0,342 mL da emulsão LSCaP, da emulsão LSCaU 30 e PZQ solubilizado em óleo de rícino (70 mg/ml) foram adicionados individualmente a uma membrana de diálise, que foi imersa em 20 mL de solução tamponada com fosfato (pH 1,5) – vale destacar que a concentração de PZQ foi a mesma para as três amostras avaliadas. O sistema de diálise foi mantido sob agitação constante e temperatura controlada ($37 \text{ }^\circ\text{C}$). Após o estabelecimento dos sistemas, 1 ml de meio de diálise foi coletado em diferentes tempos (0, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 min) e transferido para microtubos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. É importante destacar que o volume do sistema foi mantido constante pela substituição do volume removido por meio de diálise fresco (solução tamponada com fosfato). Posteriormente, essas amostras foram filtradas (em um filtro de seringa de $45 \mu\text{m}$) e posteriormente injetadas em um cromatógrafo líquido (como citado anteriormente).

Em seguida, os modelos matemáticos de primeira e zero ordem; modelo de Peppas-Shalin; modelo de Kormeyer-Peppas; modelo de Higuchi e de Hixson-Crowell foram aplicados à curva de liberação afim de elucidar melhor a cinética de liberação das emulsões analisadas e do fármaco livre.

4.4 Atividade biológica

4.4.1 Cultura de células

A linhagem celular Caco-2, obtida do banco de células da Universidade Federal do Rio de Janeiro, foi cultivada em frasco estéril contendo meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina. As células foram manipuladas em câmara de fluxo laminar vertical estéril e mantidas em incubadora a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ com atmosfera de 5% de CO_2 . Quando necessário, as células foram mantidas com auxílio de tripsina (tripsina-EDTA 0,5%, diluída 10x em PBS).

4.4.2 Ensaio de viabilidade celular - MTT

Para avaliação da viabilidade celular do lignossulfonato e das emulsões, as células foram semeadas em placas estéreis de 96 poços na densidade de $5,0 \times 10^5$ células/poço e incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 24 h. Após esse período, as amostras LSCaP, LSCaU, Emulsão LSCaP PZQ e Emulsão LSCaU 30 PZQ foram diluídas em meio completo nas seguintes concentrações: 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,23 mg/ml, 0,6 mg/ml e 0,3 mg/ml; após as diluições as células foram tratadas com 150 ul. Células não tratadas foram usadas como controle de crescimento. Após a incubação, 24 horas, o tratamento foi retirado dos poços lentamente e 100 µL de solução de MTT (5 mg/mL) foram adicionados a cada poço, seguido por uma incubação adicional por 2 horas. O sobrenadante foi então removido e 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados para solubilizar o formazano. A absorbância foi medida usando um leitor de microplacas a 570 nm.

Os valores de absorbância obtidos nos testes com o lignossulfonato e as emulsões foram convertidos em uma porcentagem de viabilidade celular com base na absorbância média do controle negativo, usando o software GraphPad Prism® versão 7.0. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prism® 7.0, aplicando-se ANOVA bidirecional com teste post-hoc de Tukey, considerando-se estatisticamente significativo $p < 0,05$.

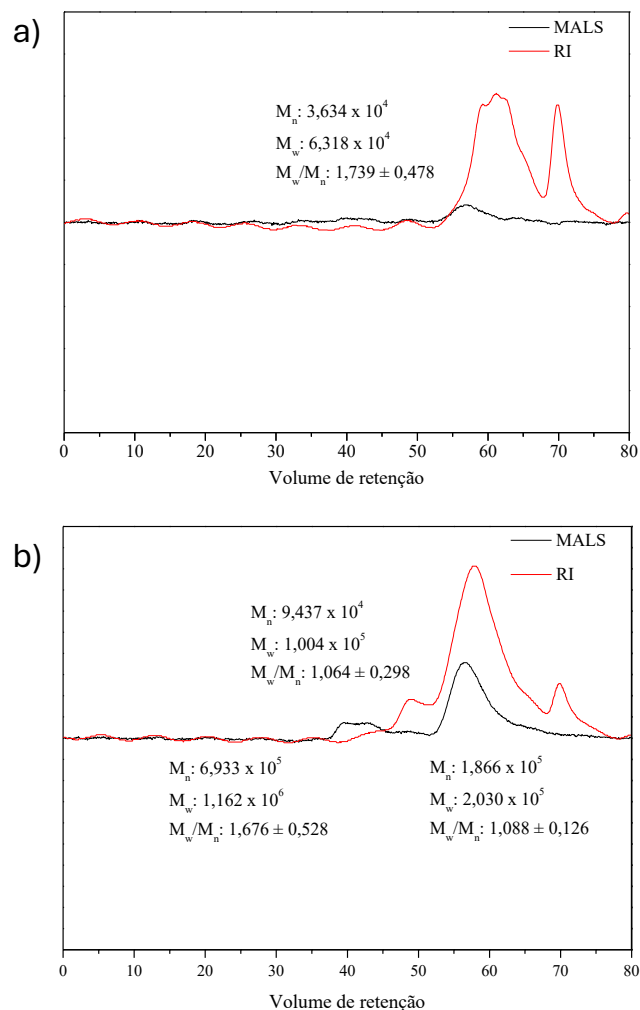
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização física e química do lignossulfonato

5.1.1 Determinação da massa molar do lignossulfonato bruto e purificado

A análise por cromatografia de exclusão por tamanho (SEC) revelou alterações expressivas na distribuição de massa molar do lignossulfonato em função do processo de purificação. Conforme ilustrado na figura 10, o cromatograma do lignossulfonato bruto (figura 10.a) apresenta um único pico largo e assimétrico, com um valor de massa molar média aparente (M_w) de $6,318 \times 10^4$ g/mol. Esse perfil cromatográfico sugere uma amostra com alta polidispersidade, refletindo a presença de uma mistura complexa de polímeros com diferentes graus de polimerização e composição química — característica comum de lignossulfonatos industriais não tratados (Fredheim et al., 2002).

Figura 10. Análise de distribuição de massa molar por SEC do lignossulfonato antes e após purificação.



Legenda. Cromatogramas de SEC comparando o lignossulfonato bruto (LSCaB) e o purificado (LSCaP). A análise mostra que o processo de purificação removeu as frações de alto peso molecular. O deslocamento do pico principal para a direita confirma essa remoção, resultando em uma massa molar média menor para a amostra purificada.

Em contraste, o cromatograma do lignossulfonato purificado (b) exibe três picos distintos, com massas molares médias aparentes de $1,62 \times 10^6$ g/mol (pico 1), $1,04 \times 10^5$ g/mol (pico 2) e $2,030 \times 10^5$ g/mol (pico 3). Essa modificação no perfil é indicativa da separação e fracionamento de diferentes populações moleculares durante o processo de purificação. A emergência de um pico com Mw na ordem de 10^6 g/mol é particularmente notável, sugerindo o isolamento de frações altamente polimerizadas ou possivelmente agregadas, que estavam mascaradas ou suprimidas no perfil do lignossulfonato bruto.

Essa reorganização do perfil de SEC evidencia que a purificação promoveu não apenas a remoção de contaminantes de baixa massa molar, como carboidratos, compostos fenólicos livres e sais, mas também resultou em uma redistribuição do material lignossulfonado em frações bem resolvidas de maior massa molar média. O aumento da Mw máxima observada após a purificação pode estar associado à eliminação de compostos interferentes que, no material bruto, competiam por interação hidrodinâmica durante a separação e distorciam o perfil do polímero (ZINOVYEV et al., 2018).

Além disso, a presença de múltiplos picos na amostra purificada pode indicar o fracionamento de subestruturas distintas de lignina sulfonada, que diferem em termos de grau de polimerização, grau de sulfonação e composição funcional. Musl et al. (2021) discutem que os lignossulfonatos são constituídos por domínios hidrofílicos e hidrofóbicos heterogêneos, o que pode influenciar seu comportamento em SEC e favorecer a separação de subpopulações com base em tamanho e estrutura. Dessa forma, os três picos observados após a purificação podem representar frações com diferentes graus de funcionalização e conformações em solução.

Outro ponto relevante é que, apesar da maior resolução dos picos, os valores de Mw das frações purificadas (particularmente o segundo e o terceiro picos, de $1,004 \times 10^5$ e $2,030 \times 10^5$ g/mol) são superiores ao valor obtido para o material bruto ($6,318 \times 10^4$ g/mol), sugerindo que a purificação enriqueceu a amostra em frações de maior massa molar e removeu componentes menores que contribuíam para o alargamento e a assimetria do pico original.

Portanto, os resultados obtidos demonstram que o processo de purificação adotado foi eficaz em modular a composição molecular do lignossulfonato, resultando em uma amostra com frações mais definidas e potencialmente mais adequadas para aplicações que exigem maior controle estrutural, como encapsulamento de fármacos, desenvolvimento de hidrogéis funcionais ou complexação com metais. Além disso, a presença de frações de alto peso molecular pode contribuir para propriedades reológicas aprimoradas e maior capacidade de formação de filmes, aspectos desejáveis em aplicações industriais e biomédicas.

5.1.2 Análise do efeito da ultrassonificação na dispersão e tamanho de partículas de lignossulfonato

Após o processo de purificação (rendimento 19%), o lignossulfonato foi submetido ao método de formação de partículas por ultrassonificação. Esta técnica, largamente documentada, é eficaz na formação e processamento de partículas e nanopartículas poliméricas, permitindo a degradação de agregados e a redução do tamanho das partículas, além de melhorar o índice de polidispersividade (Wang et al., 2021; Tang et al., 2003). A elevada intensidade de energia aplicada através do ultrassom induz a cavitação acústica, que gera pontos quentes de curta duração com um aquecimento local intenso, alcançando temperaturas de aproximadamente 5000 °C, pressões de cerca de 1000 atm e taxas de aquecimento e resfriamento superiores a 10¹⁰ K/s (Suslick et al., 1999).

Conforme demonstrado na Tabela 2, há uma relação direta entre o tempo de ultrassonificação, o diâmetro hidrodinâmico e o índice de polidispersão (PDI) das partículas de lignossulfonato. Observa-se que, à medida que o tempo de ultrassonificação aumenta, o tamanho das partículas diminui, assim como o PDI. O lignossulfonato purificado, antes do tratamento por ultrassonificação (tempo 0), apresentou um diâmetro hidrodinâmico médio de 740,0 nm e um índice de polidispersão (PDI) de 0,6, indicando polidispersão. Em comparação com os diferentes tempos de aplicação, notou-se uma redução no tamanho das partículas e uma melhoria no índice de polidispersão. Por exemplo, após apenas 30 segundos de ultrassonificação, o tamanho das partículas reduziu para 192,1 nm, apresentando um PDI de 0,3; enquanto após 300 segundos (5 minutos), o tamanho caiu para 175,7 nm e o PDI para 0,2.

Com o objetivo de verificar a significância estatística das variações no tamanho das partículas ao longo do tempo, foi realizada uma análise de variância (ANOVA two-way), com dados simulados a partir das médias e desvios-padrão observados experimentalmente, assumindo três réplicas por ponto. A análise foi aplicada separadamente aos dados de tamanho baseados em intensidade e número, revelando diferenças estatisticamente significativas ao longo dos tempos testados ($p < 0,0001$ para ambos os casos) (figura 11). Esses resultados indicam que a ultrassonificação teve impacto significativo na dinâmica de formação das partículas de lignossulfonato. O teste estatístico foi conduzido por meio de um modelo linear do tipo Valor ~ Tempo, seguido de ANOVA de um fator (modelo de efeitos fixos), utilizando o software *GraphPad Prism* para inferência. A significância estatística reforça a influência direta da energia ultrassônica no rearranjo estrutural das partículas ao longo do tempo.

Tabela 2. Tabela comparativa dos resultados de caracterização de diâmetro hidrodinâmico utilizando as distribuições em Intensidade e número, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ) obtidos na ultrassonificação do lignossulfonato

Tempo (s)	Intensidade (nm)	Número (nm)	PDI	Potencial ζ (mv)
0	740,0 \pm 2	528,0 \pm 2	0,6	-15,3 \pm 2
30	192,1 \pm 7	192,1 \pm 7	0,3	-12,2 \pm 1
60	185,8 \pm 9	138,8 \pm 9	0,2	-10,4 \pm 3
90	190,9 \pm 2	117,9 \pm 2	0,2	-11,8 \pm 5
120	163,9 \pm 9	163,0 \pm 9	0,2	-15,0 \pm 5
150	161,9 \pm 5	161,9 \pm 5	0,3	-13,3 \pm 3
180	231,9 \pm 9	153,0 \pm 9	0,3	-12,8 \pm 6
210	169,9 \pm 5	169,6 \pm 5	0,3	-11,0 \pm 5
240	195,3 \pm 5	191,3 \pm 5	0,3	-10,2 \pm 2
270	184,9 \pm 5	184,9 \pm 5	0,2	-18,0 \pm 4
300	175,7 \pm 9	185,4 \pm 9	0,2	-16,8 \pm 3

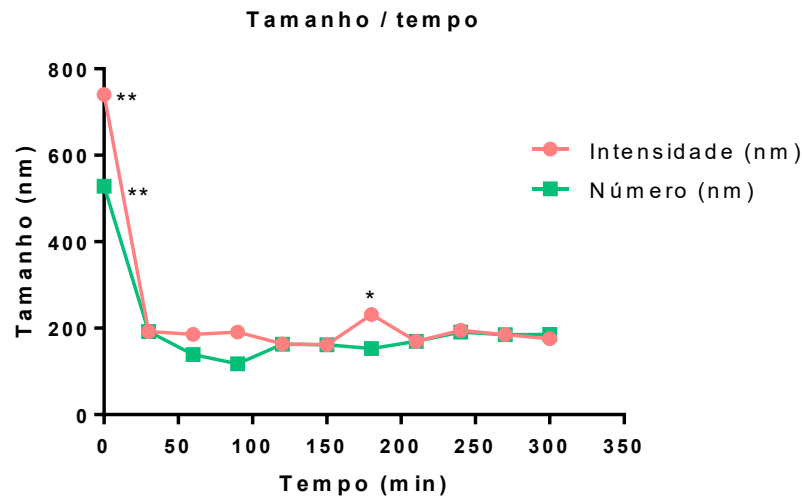
Legenda: Tamanho médio do diâmetro, PDI e potencial Zeta das partículas de lignossulfonato em função do tempo de ultrassonificação. O diâmetro médio é apresentado em duas métricas: por número e por intensidade. A variável tempo, expressa em segundos, refere-se à duração em que cada amostra foi submetida ao processo de ultrassonificação.

Além disso, é importante destacar que a redução do tamanho das partículas não foi constante ao longo dos períodos avaliados; por exemplo, aos 180 segundos, o tamanho das partículas atingiu 231,9 nm. Esse comportamento oscilatório pode estar relacionado ao equilíbrio entre forças de cisalhamento e efeitos coagulativos induzidos pela cavitação. Apesar dessas oscilações pontuais, observou-se uma tendência geral de estabilização no índice de polidispersão, indicando um sistema progressivamente mais homogêneo.

Os lignossulfonatos são descritos como polieletrólitos poliaromáticos de cadeia ramificada de maneira aleatória (Tang et al., 2023), que apresentam solubilidade em água e comportamento semelhante ao de um surfactante. Essa hidrofiliabilidade é atribuída à presença de grupos aniônicos sulfonato, bem como de grupos carboxilato aniônicos e grupos hidroxila fenólicos (Abdelrahman et al., 2024). Como ocorre em qualquer sistema que busca minimizar a energia potencial total, os lignossulfonatos podem se agregar em soluções aquosas. De acordo com a literatura (Lugovitskaya et al., 2024; Naude, 2023), essa agregação resulta de interações hidrofóbicas, nas quais as frações hidrofóbicas (interações π - π de anéis aromáticos) se orientam em direção ao núcleo do agregado, enquanto as frações hidrofílicas (interações de hidrogênio devido à presença de grande número de grupos OH) se concentram na superfície (Xu et al., 2023; Luo et al., 2012). Adicionalmente, o aumento da concentração de lignossulfonatos ou de outros eletrólitos na amostra eleva a força iônica, induzindo, assim, o fenômeno de blindagem

eletrostática ou coulombiana dos grupos aniônicos ou resultando em um menor grau de dissociação. Isso pode facilitar interações hidrofóbicas, levando à agregação (Ruwoldt, 2020; Schug et al., 2005), o que foi observado nos resultados deste estudo.

Figura 11. Análise estatística do tamanho das partículas em função do tempo.



Legenda. Análise do diâmetro das partículas em função do tempo de ultrassonificação. A ultrassonificação resultou em uma redução significativa no tamanho das partículas durante os primeiros 30 minutos, uma tendência observada tanto na análise por intensidade quanto por número. Após 30 minutos, o diâmetro das partículas se estabiliza, sem mostrar diferenças estatisticamente significativas entre os dois métodos de cálculo. Os resultados da ANOVA de um fator e do teste de comparações múltiplas de Sidak confirmaram que, embora haja uma tendência de redução inicial, as diferenças entre os tempos não são estatisticamente significativas após os 30 minutos.

Como mencionado anteriormente, a ultrassonificação de alta intensidade gera cavitação acústica, criando temporariamente "pontos quentes". Durante esse processo, pode ocorrer a formação de radicais livres, mediando reações e reagrupamentos intramoleculares na amostra (El'Piner, 1964). Além disso, a cavitação provoca um rápido movimento de moléculas ao redor da bolha cavitária, bem como ondas de choque durante o colapso da bolha, resultando em forças de cisalhamento. As rarefações e compressões no meio líquido podem induzir fenômenos dispersivos (separação de partículas) ou coagulativos (colisão e adesão de partículas), respectivamente (Subashini, 2013; Tang et al., 2003; Carlin, 1960). Estudos realizados por Gilca e colaboradores (2015) demonstraram uma redução no tamanho das nanopartículas de lignina submetidas à ultrassonificação. Segundo os autores, essa redução pode estar relacionada à desagregação das moléculas de lignina, ou associada à diminuição do coeficiente de absorção e ao aumento do relaxamento das cadeias poliméricas mais curtas, causado pela amplitude ultrassônica aplicada à amostra.

Além das análises do diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas, foram realizadas medições do potencial Zeta nos diferentes tempos de ultrassonificação. Essa, é uma medida que reflete o potencial de superfície das partículas, influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em função da dissociação de grupos funcionais na superfície das partículas ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso da dispersão (Pimentel, 2010; Mosqueiro et al., 2000; Magenhein; Benita, 1991).

No presente estudo, os valores de potencial Zeta obtidos permaneceram em uma faixa negativa, variando entre -15,00 mV e -12,00 mV (tabela 1), para todas as nanopartículas analisadas. Resultados semelhantes foram reportados por Lugovitskaya et al. (2020), que observaram potenciais Zeta comparáveis aos encontrados neste estudo. Segundo os autores, os valores do potencial Zeta de nanopartículas/partículas de lignossulfonato dependem diretamente da massa molar e da concentração de lignossulfonato na amostra. Além disso é importante ressaltar que o potencial Zeta também é influenciado diretamente pelos grupos carboxilatos e sulfonatos presentes na molécula de lignossulfonato.

Megiatto Jr. et al. (2016) investigaram a influência do lignossulfonato de sódio como agente estabilizante em suspensões aquosas e demonstraram, também, que o aumento na concentração de lignossulfonato levou a um incremento na carga das partículas. Conforme descrito pelos autores, os valores negativos observados no presente estudo podem ser atribuídos à presença de grupos funcionais sulfônicos e carboxílicos nas moléculas de lignossulfonato. Ressalta-se, ainda, que o processo de ultrassonificação do lignossulfonato não ocasionou mudanças no potencial Zeta da amostra.

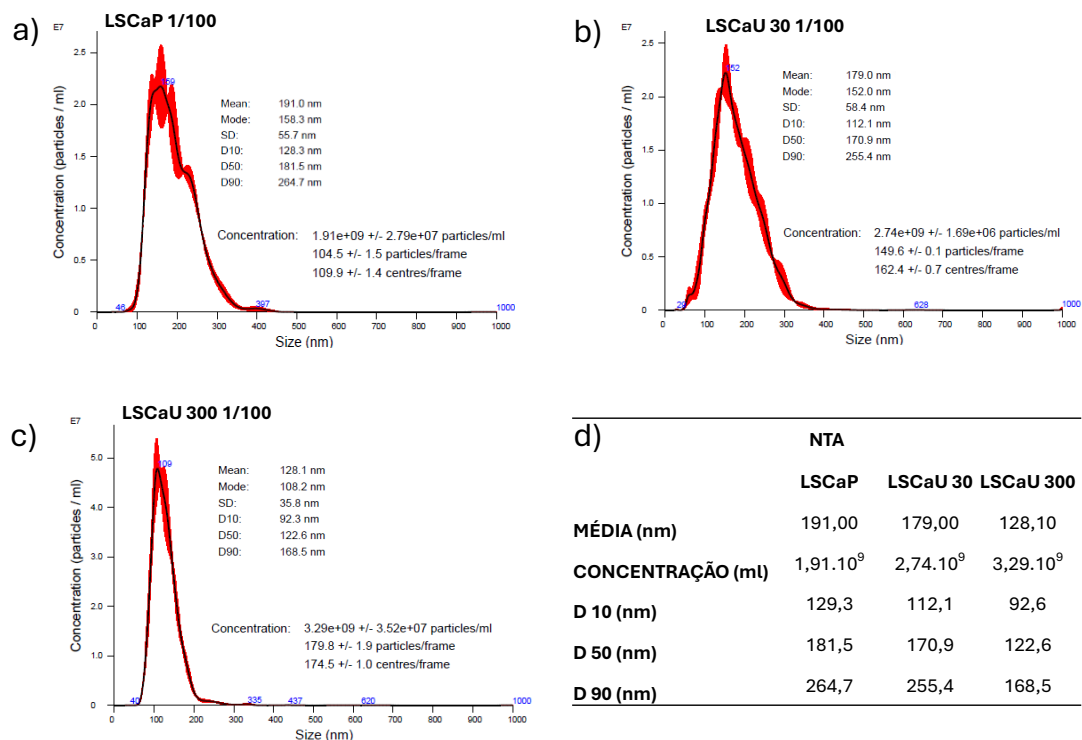
5.1.3 Análise de Rastreamento de Nanopartículas (NTA) e Microscopia de Força Atômica (AFM)

Para compreender melhor a influência da ultrassonificação no processo de formação de nanopartículas, foram realizadas análises de rastreamento de nanopartículas (NTA) e de microscopia de força atômica (AFM). É importante destacar que nem todos os tempos de ultrassonificação foram analisados, uma vez que as medidas de tamanho hidrodinâmico médio não indicaram variações significativas entre as nanopartículas formadas.

A figura 12 apresenta os resultados de NTA para o lignossulfonato purificado (LSCaP), bem como para as amostras 30S (LSCaU 30) e 300S (LSCaU 300). Observa-se que a ultrassonificação reduziu o diâmetro hidrodinâmico das partículas, aumentando a concentração de nanopartículas por mililitro. Para a amostra LSCaP, o tamanho médio registrado foi de 191 nm, com uma concentração média de $1,91 \times 10^9$ partículas/mL (figura 12.a, d). Em comparação,

as amostras LSCaU 30 (figura 12.b, d) e LSCaU 300 (figura 10.c, d) apresentaram reduções no diâmetro hidrodinâmico médio das partículas — 179,0 nm e 128,1 nm, respectivamente — e um aumento na concentração de nanopartículas, com $2,74 \times 10^9$ partículas mL⁻¹ para 30S e $3,29 \times 10^9$ partículas mL⁻¹ para LSCaU 300. Adicionalmente, a análise de NTA revelou uma redução nos valores dos percentis D10, D50 e D90, que correspondem ao diâmetro máximo observado para 10%, 50% e 90% das partículas (figura 12.d).

Figura 12. Estudo de rastreamento de partículas do lignosulfonato livre e ultrassonicado.



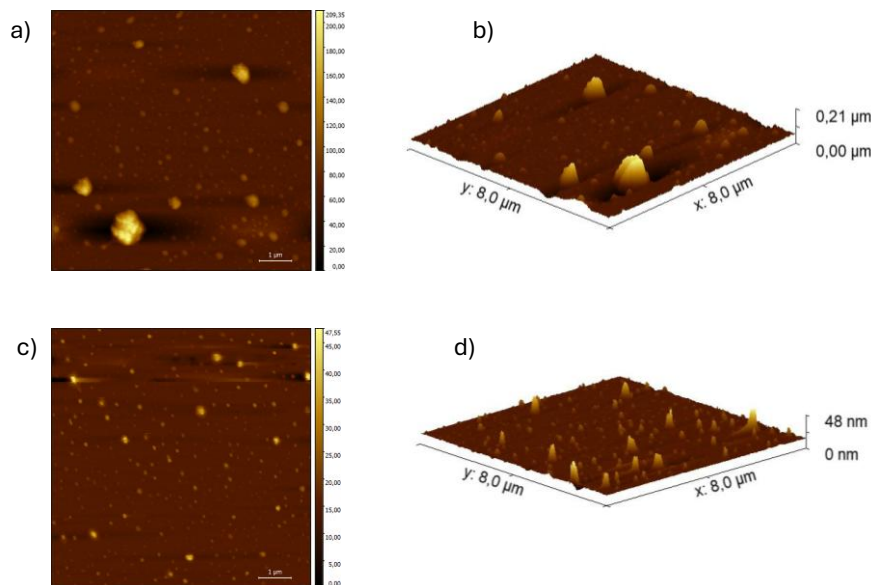
Legenda. Análise por NTA das partículas de lignossulfonato (LSCaP, LSCaU 30 e LSCaU 300). As figuras (a), (b) e (c) apresentam os gráficos de NTA para as amostras LSCaP, LSCaU 30 e LSCaU 300, respectivamente. A figura (d) é uma tabela que resume as principais informações das análises. Todas as amostras foram diluídas 100 vezes em água purificada para a realização dos testes.

A análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) é uma técnica que possibilita a visualização e caracterização de partículas em suspensão, correlacionando a taxa de movimento browniano com o tamanho das partículas (Brar et al., 2011). Essa abordagem permite obter perfis de distribuição de tamanho para partículas com diâmetros entre 10 e 100 nm. Diferentemente de técnicas como o espalhamento dinâmico de luz (DLS), o NTA depende exclusivamente da viscosidade e da temperatura do meio líquido, sem ser influenciado pela densidade ou índice de refração das partículas analisadas (Jeyaraj et al., 2019).

Uma das principais vantagens do NTA em relação ao DLS é sua capacidade de analisar partículas individualmente, proporcionando maior resolução em amostras multimodais. Além disso, o NTA permite a observação visual direta de fenômenos como agregação de partículas, o que enriquece a caracterização dos sistemas estudados (Saveyn et al., 2010; Le et al., 2008). Os resultados obtidos por NTA, apresentados em termos numéricos, corroboram os dados de tamanho hidrodinâmico médio obtidos por DLS, conforme apresentado na Tabela 2.

O lignossulfonato purificado (LSCaP) e a partícula LSCaU 30 foram analisados por microscopia de força atômica (AFM) para caracterização morfológica dos agregados de lignossulfonato presentes em LSCaP e das partículas em LSCaU 30. As imagens obtidas por AFM (Figura 13.a-b) revelaram a presença de partículas polidispersas no lignossulfonato livre, resultado que está em concordância com os dados de tamanho hidrodinâmico médio previamente obtidos.

Figura 13. Estudo das características morfológicas das nanopartículas por microscopia de força atômica.



Legenda. Imagens de microscopia de força atômica (AFM) para as amostras de lignossulfonato LSCaP e LSCaU 30. A morfologia da amostra LSCaP é ilustrada pelas imagens em (a) 2D (amplitude) e (b) 3D. Já as imagens (c) 2D (amplitude) e (d) 3D exibem a morfologia da amostra LSCaU 30, permitindo a comparação entre as duas amostras.

Assim como outros sistemas que buscam minimizar a energia potencial total, o lignossulfonato pode formar agregados em solução aquosa. Conforme discutido anteriormente, essas agregações são atribuídas principalmente a interações hidrofóbicas (Rezanowich et al., 1964). Estudos recentes utilizando espectroscopia de fluorescência sugerem que o lignossulfonato de sódio tende a formar empilhamentos π - π , característicos de agregados J —

um tipo específico de arranjo molecular em que ocorre interação entre moléculas adjacentes. Nos agregados J, é comum observar uma diminuição na fluorescência em comparação ao comportamento das moléculas isoladas (Deng et al., 2012). Além disso, a formação de ligações de hidrogênio tem sido apontada como um mecanismo adicional de interação atrativa entre as moléculas de lignossulfonato (Li et al., 2014; Vanio et al., 2008).

Estudos também demonstraram que a morfologia dos agregados/partículas de lignossulfonato pode exibir diferentes geometrias, influenciadas diretamente pelo método de preparo, como temperatura, pH, tempo de equilíbrio e concentração. Rezanowich e colaboradores (1964) observaram que o lignossulfonato forma agregados esféricos e compactos em solução aquosa.

Luo e colaboradores (2012) estudaram filmes multicamadas de lignossulfonato e obtiveram um perfil topográfico de AFM irregular e rugoso, corroborando com os resultados apresentados na figura 13.a-b. Segundo os autores, partículas de lignossulfonato tendem a se agregar facilmente devido a forças eletrostáticas e ligações de hidrogênio, sugerindo que polieletrólitos com cargas opostas, dispersos em água, formam agregados com facilidade.

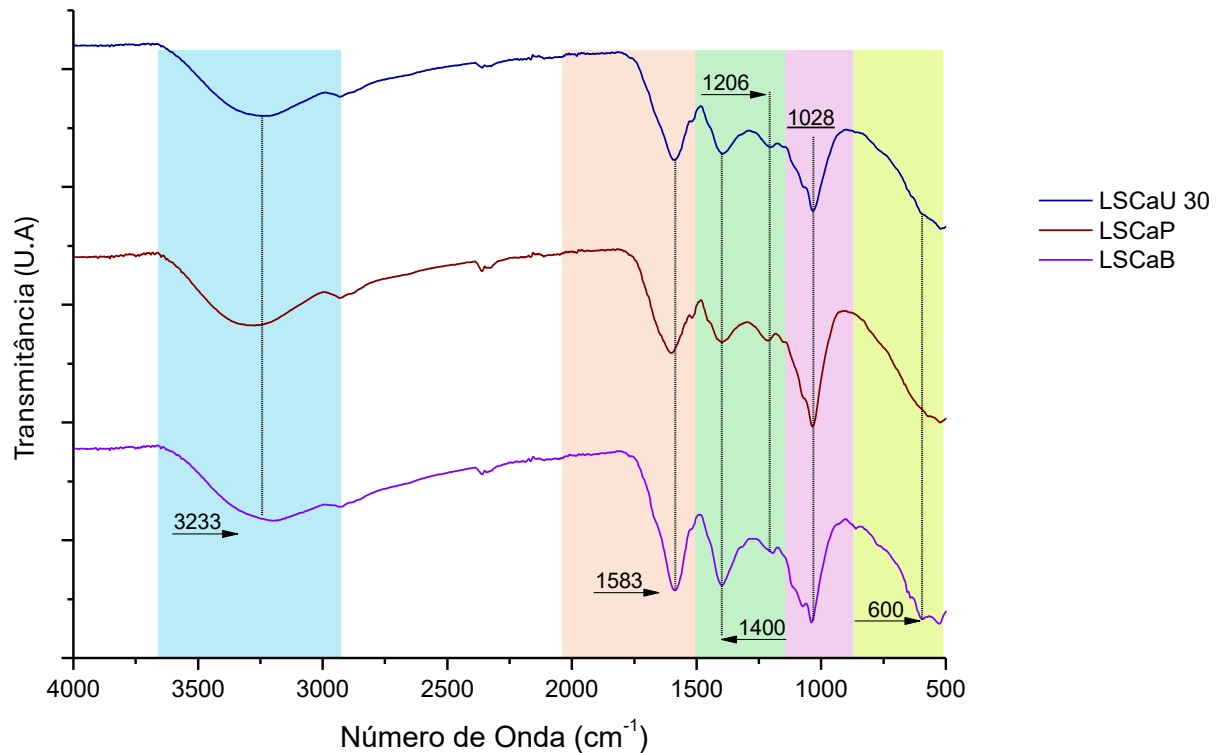
A amostra LSCaU 30 foi também analisada por microscopia de força atômica (AFM), e os resultados estão apresentados na Figura 13.c-d. Observa-se que, de forma semelhante às amostras de lignossulfonato livre, as análises do lignossulfonato submetido ao processo de ultrassonificação indicaram partículas com morfologia quase esférica. Contudo, nas análises por MFA, esta amostra apresentou-se como uma partícula com uma menor dispersão, com tamanhos menores e em maior quantidade, o que corrobora com os resultados obtidos nas análises de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e rastreamento de nanopartículas (NTA). Moradi e colaboradores (2020), observaram um comportamento parecido ao do presente estudo, indicando que o lignossulfonato nanoparticulado apresenta-se com menor grau de dispersão.

Esse padrão observado com o uso da ultrassonificação pode estar associado à despolimerização das moléculas de lignossulfonato, ou ainda à redução do coeficiente de absorção e ao aumento do relaxamento das cadeias poliméricas mais curtas, promovido pela amplitude ultrassônica aplicada à amostra, conforme discutido anteriormente.

5.1.4 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Após o processo de purificação, o lignossulfonato bruto (LSCaB), o lignossulfonato purificado (LSCaP) e o lignossulfonato ultrassonificado (LSCaU 30) foram submetidos a análises por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (figura 14) e por ressonância magnética nuclear (RMN) (figura 15).

Figura 14. Estudo dos espectros de infravermelho do lignossulfonato.



Legenda. Espectros de infravermelho das amostras de lignossulfonato. Os espectros representam o lignossulfonato ultrassonificado por 30 segundos (LSCaU 30, linha azul), o lignossulfonato purificado (LSCaP, linha marrom) e o lignossulfonato bruto (LSCaB, linha roxa).

Os resultados de FTIR, obtidos tanto para o lignossulfonato bruto quanto para o purificado e para o lignossulfonato ultrassonificado, revelaram uma banda na região de 1028 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de CO (Shen et al., 2008) (destaque em rosa), característico de álcoois primários encontrados em polissacarídeos naturais. Além disso, LSCaB, LSCaP e LSCaU 30 apresentaram bandas em 1206 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento simétrico e assimétrico de grupos $-\text{SO}_2$ (Katahira et al., 2018; Ludwig et al., 1971) (destaque em verde). Também são visíveis bandas nas regiões de 1400 cm^{-1} e 1583 cm^{-1} , associadas ao alongamento da ligação C=C, provenientes das vibrações da estrutura do anel aromático principal (destaque em verde e laranja, respectivamente) e bandas na região de 3233 cm^{-1} referentes a grupos OH (destaque em azul) (Du et al., 2023; Pei et al., 2020; Ouyang et al., 2006).

Esses resultados estão em concordância com os estudos realizados por Wibowo et al. (2023), Komisarz et al. (2022) e Shen et al. (2008), que também observaram essas bandas ao

analisar o lignossulfonato por FTIR em seus experimentos. Ademais, é importante ressaltar que o processo de purificação e ultrassonificação não alteraram estruturalmente as moléculas de lignossulfonato, em função da presença das mesmas bandas em todas as amostras. Por fim, as bandas em $600\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ (amarelo) sugerem vibrações de deformação axial de C-S, características de grupo sulfonato, e deformação angular fora do plano de C-H (Zarei et al., 2022; Núñez-Flores et al., 2012). Moradi et al. (2020) também relataram as mesmas bandas características em seus estudos. Os autores observaram que o processo de formação de nanopartículas ou, no contexto deste estudo, a desagregação do lignossulfonato não alterou os espectros de FTIR.

Além dos espectros de infravermelho, LSCaB, LSCaP e LSCaU 30 também foram analisados por RMSN de HSQC com o objetivo de identificar o tipo de lignina presente nas amostras. Vale ressaltar que lignossulfonatos podem ser do tipo guaiacila ou siringila-guaiacila (Widsten et al., 2020). A figura 15 apresenta uma visão geral do espectro de HSQC das amostras analisadas. Nela, destacam-se as seguintes regiões: $114,5\text{-}115,5/6,62\text{-}7,12$; $92,5\text{-}97,1/4,58\text{-}5,27$ e $56,1\text{-}76,5/3,24\text{-}4,50$ ppm, que correspondem, respectivamente, às correlações (C-H) do: (1) anel aromático, (2) carbono/hidrogênio anomérico dos carboidratos e (3) cadeia alquílica, grupos metoxil e anel dos carboidratos (Dizhbite et al., 2004).

No que tange à região dos carbonos anoméricos dos carboidratos, os espectros de HSQC revelam que a fração LSCaP e LSCaU 30 (figura 15.b-c) apresenta um número maior de correlações nesta área em comparação com a LSCaB, indicando que a fração LSCaP e LSCaU 30 (figura 15.b-c) possui um teor mais elevado de carboidratos em relação a LSCaB. Ademais, considerando que a maior parte dessas correlações se concentra entre $92,6\text{-}94,1/4,89\text{-}4,27$ ppm, pode-se inferir que a maior parte dos carboidratos está na forma de oligossacarídeos. A presença de carboidratos, especialmente hemiceluloses como xilanas, é comum em amostras de lignossulfonato. Estudos anteriores relataram a presença de até 55% de hemiceluloses em lignossulfonatos comerciais (MUSL et al., 2021).

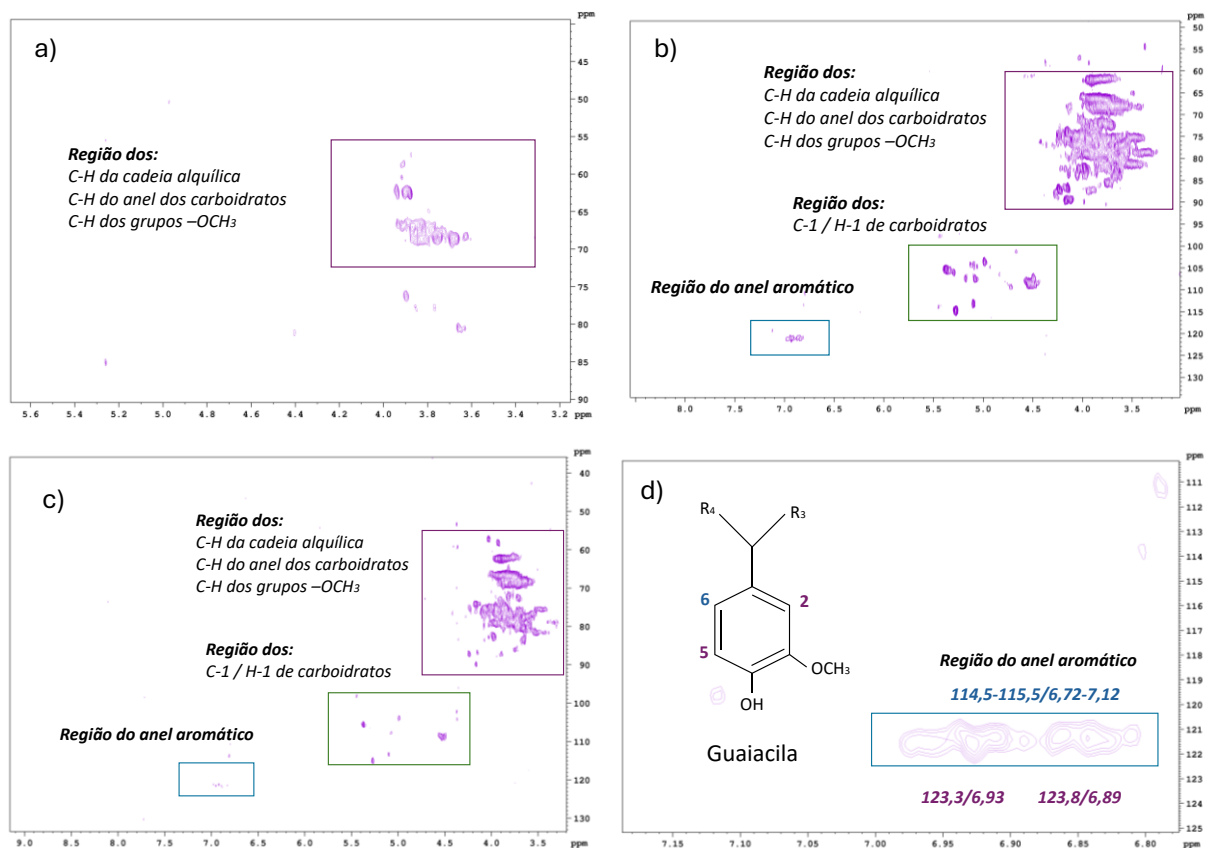
Na região com deslocamento químico associado ao anel aromático dos espectros de HSQC (figura 14.d), as correlações entre $114,5\text{-}155,5/6,72\text{-}7,12$ observadas apenas nas frações LSCaP e LSCaU 30 foram atribuídas ao C-2/H-2 e C-5/H-5 das unidades guaiacila. Para essas amostras, as correlações em $123,3/6,93$ e $123,8/6,89$ ppm correspondem ao C-6/H-6 da mesma unidade. Dessa forma, conclui-se que o lignossulfonato presente nas amostras LSCaB, LSCaP e LSCaU 30 é do tipo guaiacila (Assumpção et al., 2022).

Além disso, é relevante destacar que a amostra LSCaB (Figura 15.a) não apresenta espectros na região de anéis aromáticos, o que indica que o material bruto contém uma mistura

de impurezas e que a quantidade de lignossulfonato na amostra bruta é baixa em comparação com as impurezas. Observa-se que a Figura 15.a apresenta espectros apenas nas regiões correspondentes ao carbono/hidrogênio anomérico dos carboidratos e à cadeia alquílica, além de grupos metoxila e do anel de carboidratos — presentes em polissacarídeos naturais.

Assim, a análise de RMN confirma a natureza do lignossulfonato (guaiacila) presente nas amostras. Em conformidade com esses resultados, a análise de RMN sugere que as amostras de lignossulfonato contém ligninas do tipo guaiacila. Portanto, o lignossulfonato dessa amostra provém de biomassa de folhosas (hardwood), de acordo com sua composição lignínica, como também foi observado por Ayuso-Fernández e colaboradores (2019).

Figura 15. Ressonância Magnética Nuclear dos lignossulfonatos analisados.



Legenda. Espectros de RMN-HSQC para as amostras de lignossulfonato LSCaB, LSCaP e LSCaU 30. As figuras (a), (b) e (c) apresentam os espectros de HSQC das amostras bruta, purificada e ultrassonificada, respectivamente. A figura (d) mostra um destaque das regiões de anéis aromáticos, onde os destaques em roxo, verde e azul representam, respectivamente, as regiões de carbonos, carboidratos e anéis aromáticos.

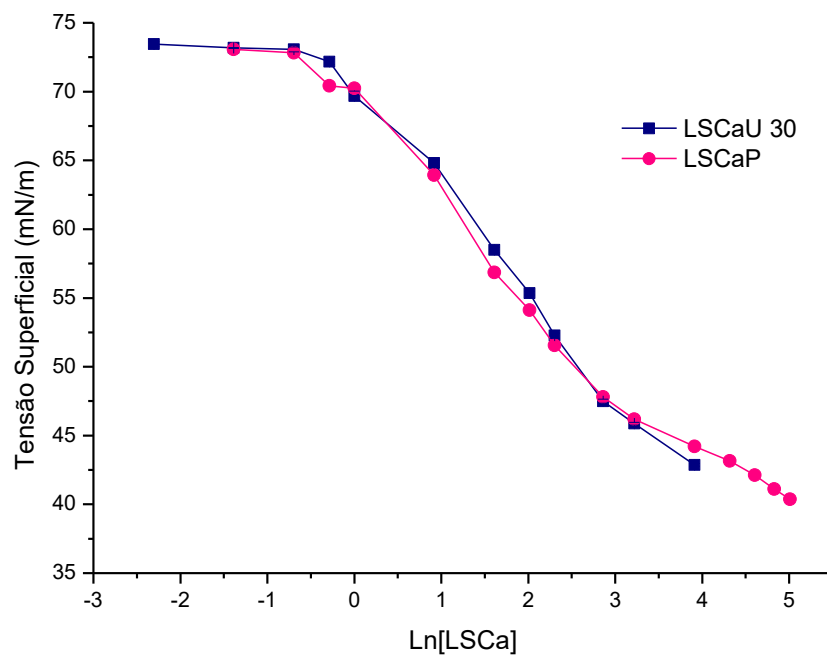
5.1.5 Tensão superficial e interfacial do lignossulfonato purificado e ultrassonificado

A tensão superficial é uma propriedade física que surge na interface entre duas fases, como o líquido e o ar, resultante das forças de coesão entre moléculas que, na superfície, criam uma espécie de membrana elástica, minimizando a área de contato (Toshev et al., 2006). Esse

fenômeno é fortemente influenciado pela presença de solutos, especialmente surfactantes, que se adsorvem na interface e reduzem sua energia, diminuindo a tensão superficial e estabilizando o sistema.

Ao observar a figura 16, referente à tensão superficial, nota-se um comportamento característico de surfactantes moleculares, tanto para LSCaP quanto para LSCaU 30. Através da Isoterma de Gibbs, percebe-se que não ocorre a formação de um platô, ou seja, não há um ponto de saturação das amostras na faixa de concentração testada – de 0,001 a 50 mg/mL. Em surfactantes moleculares tradicionais, a Isoterma de Gibbs permite identificar a concentração micelar crítica (CMC), que é o ponto em que a interface está saturada com moléculas de surfactante, a área ocupada pelos mesmos na interface é mínima, e o excesso de surfactantes na solução, em equilíbrio com a interface, começam a formar micelas no meio líquido, otimizando a redução da tensão superficial (Mukherjee et al., 2013).

Figura 16. Isoterma de Gibbs representado pela Tensão superficial de LSCaP e LSCaU 30 em função da concentração em 50 mg/ml.



Legenda. Análise das isotermas de Gibbs para lignossulfonato de cálcio (LSCaP) e lignossulfonato ultrassonificado (LSCaU 30) a 20 °C. O gráfico ilustra a tensão superficial na interface água/ar para ambas as amostras, permitindo a comparação de suas propriedades de adsorção na superfície em uma temperatura controlada de 20 °C.

Em sistemas compostos por macromoléculas, como os lignossulfonatos, o ponto de agregação é denominado concentração de agregação crítica (CAC) (Ge et al., 2014). No caso do LSCaP, sugere-se que suas estruturas anfífilas, de tamanhos variados, estão em reorganização na interface, o que explica a ausência de um platô bem definido — característico

de uma alteração na tensão superficial. Adicionalmente, a elevada polidispersão do lignossulfonato pode explicar a ausência de uma CAC bem definida. Segundo a literatura, acredita-se que os lignossulfonatos apresentam, de modo geral, menor atividade de superfície na interface líquido-gás em comparação aos surfactantes clássicos. A CAC dos lignossulfonatos pode, ainda, variar conforme a concentração, influenciada por fatores como a pureza da amostra, massa molar, grau de sulfonação e temperatura (Ruwoldt, 2020), e os resultados evidenciam uma redução pronunciada da tensão superficial, de até 35 mN m^{-1} .

Qiu e colaboradores (2010) demonstraram, por meio de absorvância UV, que em concentrações abaixo de $0,380 \text{ mg mL}^{-1}$, as moléculas de lignossulfonato permanecem individualizadas em solução, sem formação de agregados. Os autores também relataram que, ao aumentar a concentração de lignossulfonatos, dois eventos ocorrem na análise da tensão superficial: inicialmente, há a agregação de moléculas livres de lignossulfonato coexistindo na mesma solução; e em concentrações superiores a $0,870 \text{ mg mL}^{-1}$, esses agregados aumentam de tamanho até atingir a concentração de agregação crítica, promovendo, assim, uma alteração na tensão superficial.

Ao contrário da tensão superficial, a tensão interfacial é uma propriedade física que ocorre entre duas fases imiscíveis, como óleo e água. Semelhante à tensão superficial, a tensão interfacial é causada pelas forças de coesão e adesão entre as moléculas das duas substâncias (Berry et al., 2015). No caso de substâncias imiscíveis, como óleo e água, as moléculas de cada substância preferem interagir entre si (coesão) a interagir com as da outra substância (adesão), criando uma "barreira" entre as fases e resultando em tensão na interface.

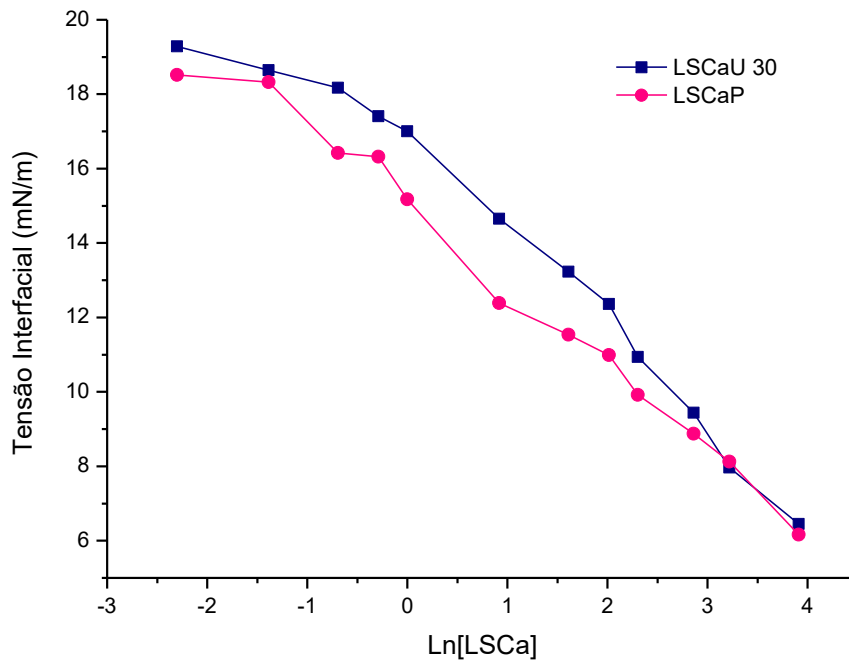
Os dados de tensão interfacial, apresentados na figura 17, mostram, assim como a tensão superficial (figura 16), um efeito surfactante para o LSCaP e o LSCaU 30, sem a formação de um platô bem definido. Isso sugere que, nas concentrações testadas ($50\text{--}0,001 \text{ mg/ml}$), não foi possível observar a concentração de agregação crítica do lignossulfonato livre e particulado em óleo de rícino.

Askvik e colaboradores (2001) realizaram estudos de lignossulfonatos como estabilizantes de emulsões, demonstrando que é possível que exista um fracionamento do lignossulfonato, já que esse não se apresenta como uma molécula homogênea, e uma gama de complexos particionados de lignossulfonato esteja presente da interface se reorganizando, interagindo entre si (coesão) e com interface da fase orgânica (óleo) (adesão).

Além disso, Ruwoldt e colaboradores (2020) obtiveram resultados semelhantes aos do presente estudo, relatando que lignossulfonatos de menor massa molar são mais eficazes na

estabilização de emulsões e na redução da tensão interfacial, embora ainda não haja uma explicação clara sobre o mecanismo desse efeito.

Figura 17. Isoterma de Gibbs representado pela Tensão interfacial de LSCaP e LSCaU 30 em função da concentração em 50 mg/ml.



Legenda. Análise das isotermas de Gibbs para lignossulfonato de cálcio (LSCaP) e lignossulfonato ultrassonificado (LSCaU 30) a 20 °C. A figura ilustra a redução da tensão interfacial na interface água/óleo de ricino, comparando o desempenho das duas amostras. A análise foi realizada em uma temperatura controlada de 20 °C.

5.1.6 Determinação do Ângulo de contato trifásico

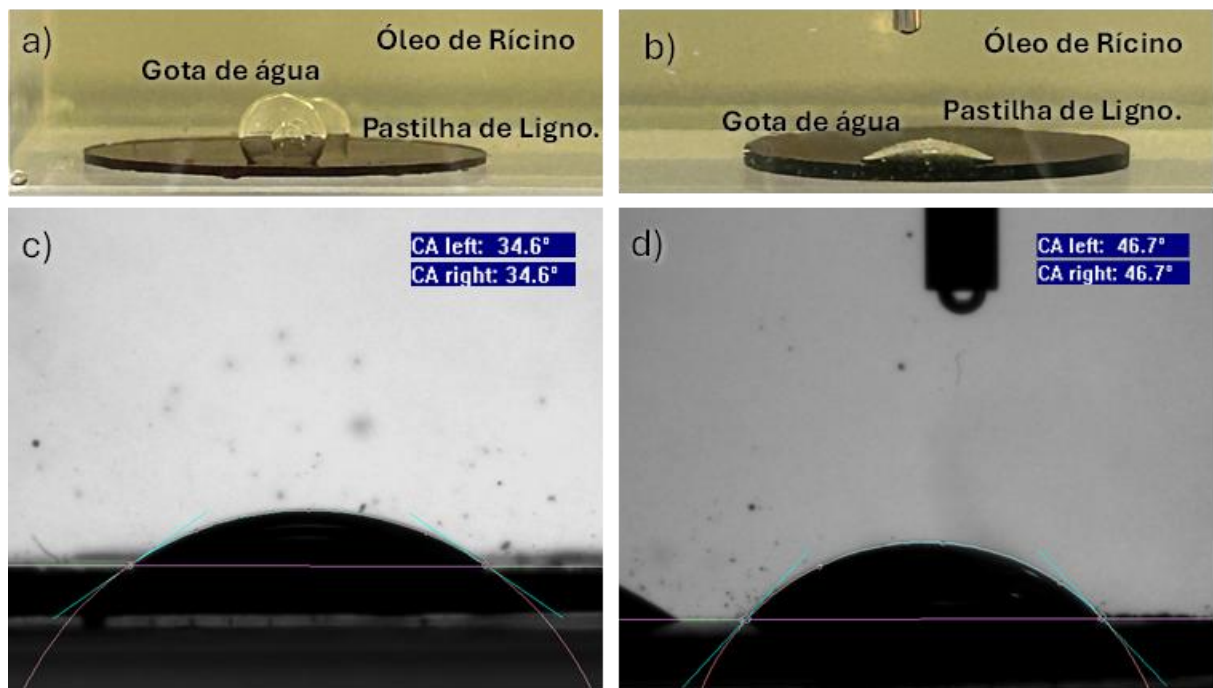
O ângulo de contato trifásico é uma medida essencial na ciência de superfícies e interfaces, utilizada para descrever a interação entre um sólido, um líquido e um gás na linha de encontro dessas três fases (Butt et al., 2022). Esse ângulo é definido pela tangente na superfície do sólido até o ponto de contato com o líquido e o ar, sendo um indicador da molhabilidade do sólido pelo líquido (Eral et al., 2013).

Ao fornecer informações sobre a energia de superfície e a interação entre as fases, o ângulo de contato permite inferir o comportamento de molhabilidade: valores inferiores a 90° indicam alta molhabilidade, onde o líquido se espalha pela superfície sólida, característica de superfícies hidrofílicas; já valores superiores a 90° indicam baixa molhabilidade, onde o líquido tende a formar gotas sobre o sólido, como ocorre em superfícies hidrofóbicas (Xu et al., 2022;

Binks et al., 2013). Esses valores são determinados pela equação de Young, que descreve o equilíbrio das forças de tensão superficial nas três fases, determinando, assim, o ângulo de contato que o líquido forma com o sólido em uma interface específica (Butt et al., 2022; Sergi et al., 2012).

Assim, as amostras LSCaP e LSCaU 30 foram submetidas a análises de ângulo de contato, cujos resultados estão apresentados na figura 18. A figura 18.a ilustra o momento inicial, imediatamente após a deposição da gota de água sobre as pastilhas de lignossulfonato. Após 2 minutos, observa-se a adsorção da gota pela pastilha, configuração que se mantém ao longo dos 5 minutos de análise (Figura 18.b). A média dos ângulos de contato para LSCaP e LSCaU 30, mostrados nas figuras 18.c e 18.d, são de $34,87^\circ \pm 3,3$ e $44,4^\circ \pm 3,6$, respectivamente, ambos inferiores a 90° , indicando alto índice de hidrofiliicidade das amostras.

Figura 18. Ângulo de contato de LSCaP e LSCaU 30.



Legenda. Imagens de ângulo de contato para as amostras de lignossulfonato LSCaP e LSCaU 30. As figuras (a) e (b) ilustram, respectivamente, o início da deposição da gota de água e a conformação final da gota após 2 minutos de estabilização. As imagens (c) e (d) mostram as medições do ângulo de contato obtidas para as amostras LSCaP e LSCaU 30, respectivamente.

Os lignossulfonatos são polímeros aniônicos altamente ramificados, produzidos durante o processo de polpação de madeira com sulfito (Ruwoldt, 2020). Ao contrário de outras técnicas de extração de lignina, eles geralmente apresentam boa solubilidade em água, devido à abundância de grupos sulfonados. Além disso, possuem propriedades anfífilas, pois contêm grupos aniônicos e frações hidrofóbicas, como anéis aromáticos e cadeias alifáticas (Wurzer et

al., 2022). De um ponto de vista molecular, a macromolécula de lignossulfonato tende a alcançar um estado de energia mais estável ao expor suas frações hidrofílicas para a água, enquanto afasta as partes hidrofóbicas (Jost Ruwoldt, 2022), o que pode estar relacionado ao ângulo de contato observado para a amostra LSCaP (Figura 18.c).

Como observado na figura 18.d houve um aumento no ângulo de contato quando o lignossulfonato foi submetido ao processo de ultrassonificação, sugerindo que o aumento do número de partículas, como demonstrado no resultado de NTA, pode tornar o lignossulfonato mais hidrofóbico. Zhang e colaboradores (2019) relataram um aumento na hidrofobicidade ao revestirem compósitos de poliuretano à base de óleo de rícino com lignossulfonato (LSCa), demonstrando que a maior concentração de LSCa influenciou diretamente a molhabilidade dos compósitos. Da mesma forma, Liu e colaboradores (2012) observaram uma redução na hidrofiliabilidade em fibras de celulose revestidas com lignossulfonato, concluindo que as propriedades de umedecimento dessas fibras são fortemente influenciadas pelo polieletrólito presente na camada superficial das fibras.

Uma forma de promover um possível aumento da hidrofobicidade, e, conseqüentemente, a redução da tensão superficial, seria aumentar a concentração de partículas de lignossulfonato com menor caráter hidrofílico. Uma das hipóteses para explicar a alteração na polaridade superficial das nanopartículas de lignossulfonato, em comparação ao lignossulfonato molecular, é que as partículas ocupam uma área superficial maior. Esse leve aumento na hidrofobicidade pode facilitar a migração das partículas para a interface líquido-líquido. É importante destacar que, uma vez adsorvidas na interface, essas partículas permanecem irreversivelmente fixadas, diferentemente dos surfactantes moleculares, que mantêm um equilíbrio dinâmico entre a interface e a solução. Além disso, os lignossulfonatos, por serem polieletrólitos, aumentam a concentração de eletrólitos conforme sua concentração é elevada, o que também influencia o comportamento do sistema, como observado na figura 18.d.

5.2 Desenvolvimento e caracterização das emulsões

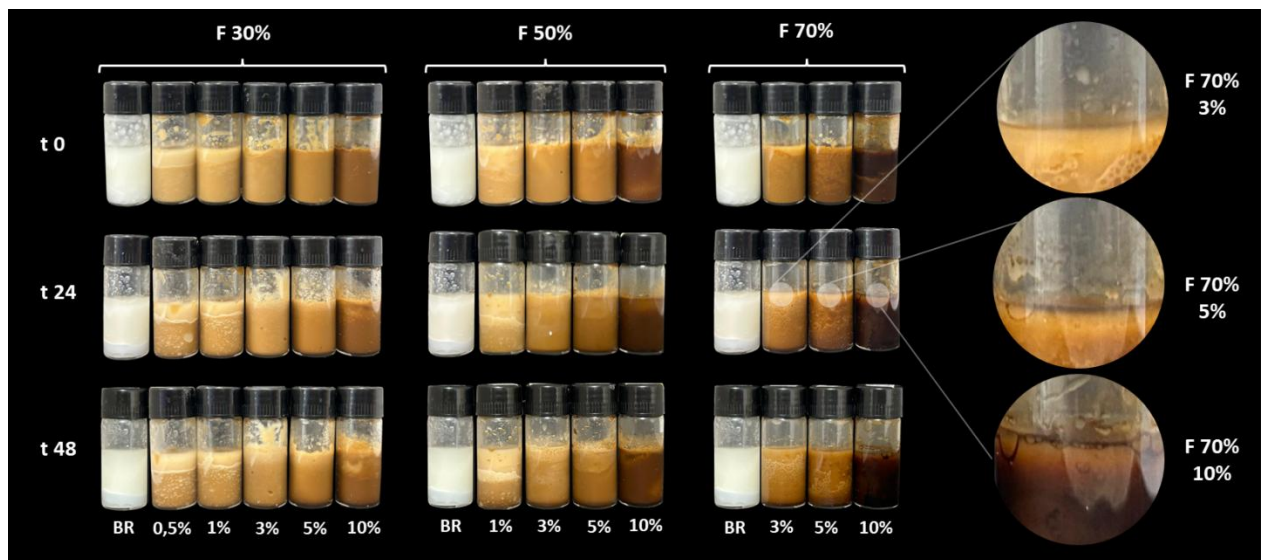
5.2.1 Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato purificado - LSCaP

Os resultados iniciais das emulsões estão ilustrados na figura 19, demonstrando que foi possível emulsionar adequadamente o óleo de rícino com concentrações de lignossulfonato superiores a 3%. Nos grupos F 30% e F 50% (30% e 50% de óleo de rícino, respectivamente), não foi observada separação de fases em até 48 horas para concentrações de lignossulfonato acima de 3%. No entanto, no grupo F 70% (70% de óleo de rícino), a separação de fases

começou a ocorrer nas primeiras 24 horas de observação – para todas as concentrações de lignossulfonato testadas em F 70%, como observado na figura 19.

Conforme indicado na figura 18, os testes iniciais não incluíram todas as concentrações de lignossulfonato para cada fração de óleo testada. As concentrações menores, de 0,5% e 1%, não emulsionaram bem as frações de 30% e 50% (m/m), por esse motivo não foram testadas no grupo F 70%.

Figura 19. Emulsões utilizando lignossulfonato em diferentes frações de óleo de rícino.



Legenda. Imagens da análise preliminar de emulsões de LSCaP e óleo de rícino. A figura mostra o comportamento das emulsões após 48 horas, em que as concentrações de LSCaP variam entre 1%, 3%, 5% e 10%. Todas as emulsões foram preparadas com um volume final de 4 gramas.

Observa-se na Figura 19 que as frações F 30% e F 50% apresentaram comportamentos semelhantes ao longo das 48 horas de análise. Diante disso, optou-se por utilizar a fração F 50% nos experimentos subsequentes. Essa escolha foi motivada pelo fato de que uma das metas deste trabalho é incorporar o praziquantel em uma emulsão utilizando óleo de rícino como fase oleosa, uma vez que, segundo a literatura, o PZQ apresenta boa solubilidade nesse óleo (Mengarda et. al., 2025). Assim, ao aumentar a fração de óleo de rícino, espera-se ampliar a capacidade de carregamento do fármaco na emulsão. Dessa forma, a concentração de 50% foi selecionada por representar uma formulação com maior potencial de incorporação do PZQ, mantendo, ao mesmo tempo, a estabilidade desejada da emulsão.

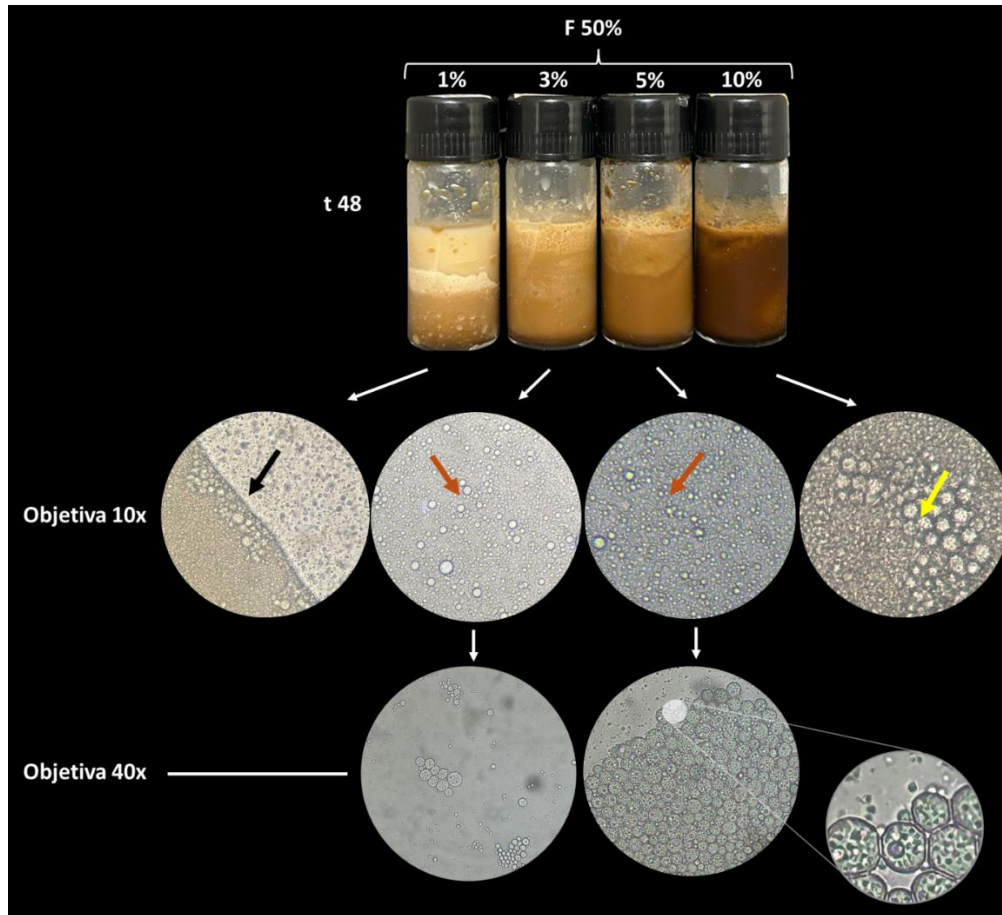
Conforme mencionado anteriormente, a formulação F 50% foi escolhida para os testes subsequentes, cujos resultados estão apresentados na figura 20. Essa análise qualitativa, realizada por microscopia óptica, avaliou a estabilidade das emulsões após 48 horas de preparo,

mantidas à temperatura ambiente (22–26 °C). Observa-se, conforme a figura 20, que a amostra contendo 1% de lignossulfonato apresentou separação de fases visível a olho nu após 48 horas. Essa separação também pôde ser claramente identificada na imagem obtida por microscopia óptica com aumento de 10× (indicada pela seta preta). Em contraste, as amostras com 3% e 5% de lignossulfonato demonstraram boa estabilidade nesse mesmo intervalo de tempo, com gotículas bem definidas e estabilizadas, como evidenciado na microscopia óptica (seta vermelha). No entanto, ao se realizar uma diluição de 1:100 para melhor visualização das gotículas em aumento de 40×, observou-se que as gotículas da emulsão com 4% de lignossulfonato se desintegraram, sugerindo uma possível instabilidade nessa concentração. Esse comportamento não foi observado na amostra com 5% de lignossulfonato, cuja emulsão manteve a integridade das gotículas mesmo após a diluição, indicando, possivelmente, uma maior estabilidade.

Esses resultados indicam que, embora o lignossulfonato atue como um estabilizante particulado, sua atuação isolada pode não ser suficiente para garantir estabilidade em todas as concentrações testadas, especialmente em condições de diluição. A observação de instabilidade após a diluição, particularmente na amostra com 4% de lignossulfonato, sugere que a estabilização da emulsão está sendo modulada, em grande parte, pela presença de surfactantes moleculares. Diferentemente das emulsões do tipo Pickering, por exemplo, — que são estabilizadas por partículas sólidas adsorvidas de forma irreversível na interface e, portanto, tendem a manter sua estabilidade mesmo após diluição — emulsões estabilizadas por surfactantes moleculares são mais suscetíveis à desestabilização. Isso ocorre porque os surfactantes moleculares estão em equilíbrio dinâmico entre a interface e a fase contínua, podendo ser removidos da interface em meio diluído, o que compromete a integridade das gotículas. Dessa forma, a perda de estabilidade observada em determinadas formulações sugere uma predominância do mecanismo de estabilização por surfactantes moleculares, e não exclusivamente por partículas sólidas como seria esperado em emulsões de Pickering clássicas.

Adicionalmente, a emulsão com 10% de lignossulfonato também apresentou formação evidente de gotículas quando comparada às amostras contendo 3% e 5% de lignossulfonato (indicada pela seta amarela), sugerindo que concentrações iguais ou superiores a 10% de lignossulfonato também podem ser utilizadas para estabilização de emulsões utilizando óleo de rícino.

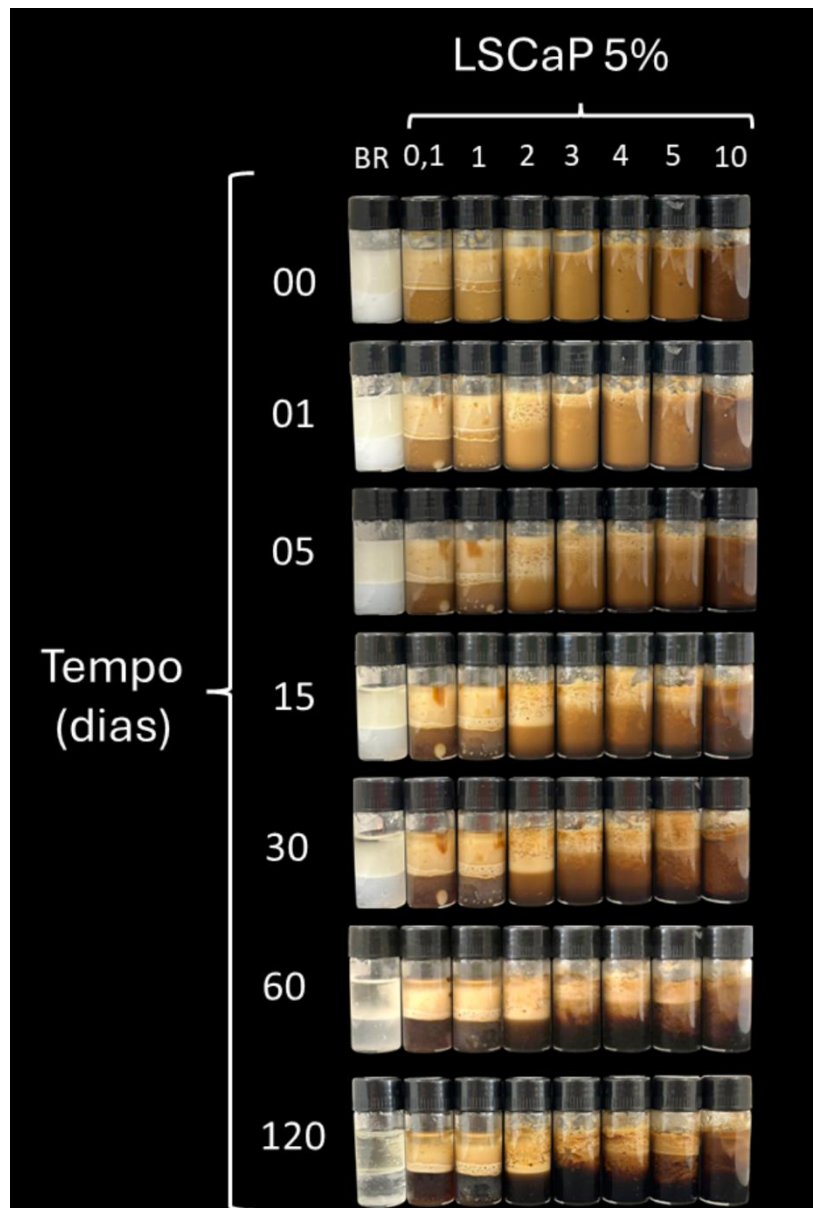
Figura 20. Estudo macroscópico de microscópio de diferentes concentrações de LSCaP em 50% de óleo de rícino.



Legenda. Na imagem, a seta preta indica a separação de fases, a seta vermelha aponta para as gotículas estabilizadas e a seta amarela sinaliza o excesso de lignossulfonato. As concentrações de LSCaP nas emulsões são de 1%, 3%, 5% e 10%, com um volume final de 4 gramas (m/m) para cada amostra.

Após a seleção inicial da fração oleosa a ser utilizada, realizou-se um estudo macroscópico mais detalhado aplicando a fração F 50% combinada com diferentes concentrações de LSCaP (0,1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% e 10% m/m) por um período de até 120 dias (figura 21). O tempo zero foi definido imediatamente após a ultrassonificação das emulsões.

Figura 21. Estabilidade macroscópica das emulsões estabilizadas com LSCaP em função do tempo.



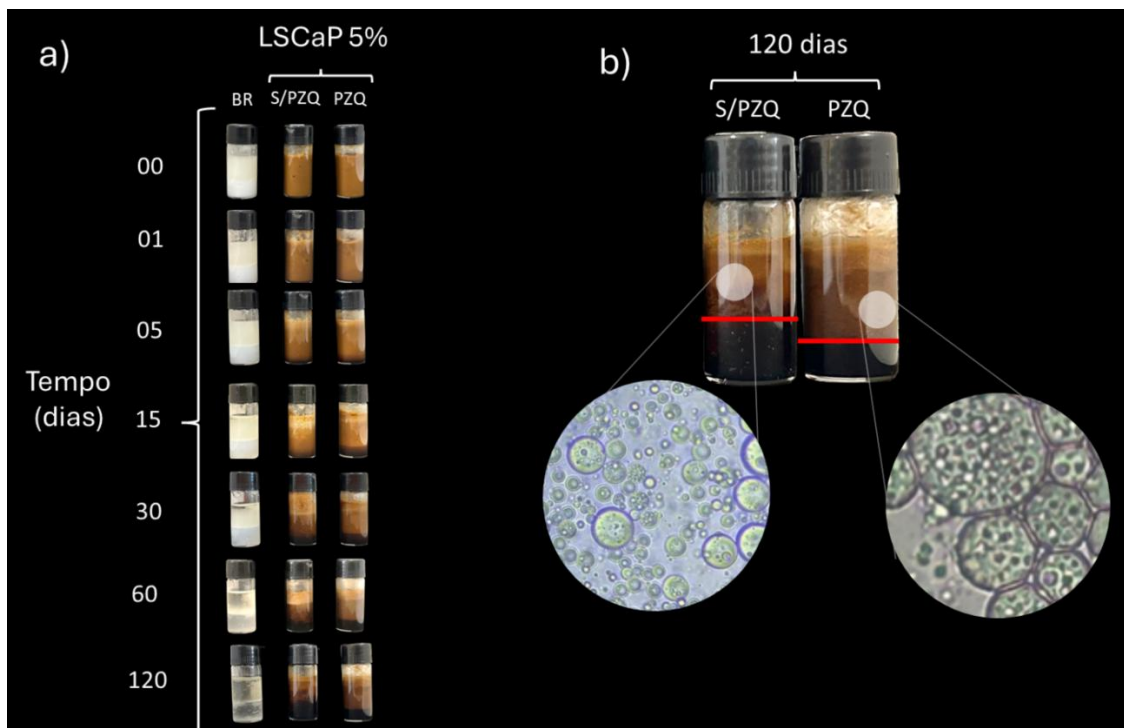
Legenda. Análise da estabilidade de emulsões de lignossulfonato e óleo de rícino ao longo do tempo. A figura mostra o comportamento das emulsões de LSCaP em diferentes concentrações (0,1%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% e 10%) após um período de 45 horas

As emulsões contendo 3%, 4%, 5% e 10% de LSCaP demonstraram boa estabilidade logo após o processo de ultrassonificação, apresentando os primeiros sinais de separação de fases apenas após 15 dias. Esse comportamento sugere que, nessas concentrações, o lignossulfonato atua de forma eficiente na estabilização do óleo de rícino. Em contrapartida, as emulsões formuladas com 0,1%, 1% e 2% de LSCaP apresentaram separação de fases já nas primeiras 24 horas, indicando que concentrações mais baixas não são suficientes para garantir

a estabilidade da emulsão. A literatura destaca os lignossulfonatos como estabilizantes eficazes para emulsões óleo/água, atuando por meio de diferentes mecanismos, como repulsão eletrostática, impedimento estérico, estabilização coloidal e formação de uma camada interfacial semirrígida (Xu et al., 2017). Além disso, a estabilidade observada nas emulsões com concentrações superiores a 3% durante os primeiros 30 dias pode estar relacionada a alterações nas propriedades reológicas do sistema, promovidas pelo aumento do teor de lignossulfonato.

Considerando esses resultados, a formulação contendo 5% de LSCaP foi selecionada para a incorporação do praziquantel (PZQ), conforme ilustrado na Figura 22-a. Essa escolha foi baseada nos dados de microscopia óptica, que indicaram excelente estabilidade da emulsão, mesmo após processos de diluição — um critério relevante, dado que a presença de surfactantes moleculares pode comprometer a estabilidade interfacial em meios diluídos. Além disso, embora a emulsão com 10% de lignossulfonato também tenha apresentado boa estabilidade, essa não foi selecionada levando em consideração que foi possível ter um bom resultado com uma menor concentração de lignossulfonato. Como a formulação com 5% de LSCaP apresentou desempenho semelhante em termos de estabilidade, mas com aparência mais adequada, ela foi considerada a mais apropriada para os ensaios de incorporação do PZQ conduzidos neste estudo.

Figura 22. Estabilidade macroscópica das emulsões formuladas com LSCaP com e sem praziquantel.



Legenda. (a) Avaliação da estabilidade macroscópica das emulsões contendo praziquantel ao longo de 120 dias; (b) Detalhe do tempo de 120 dias, com a linha vermelha indicando a interface de separação de fases. Os círculos em destaque evidenciam a morfologia das gotas em cada formulação.

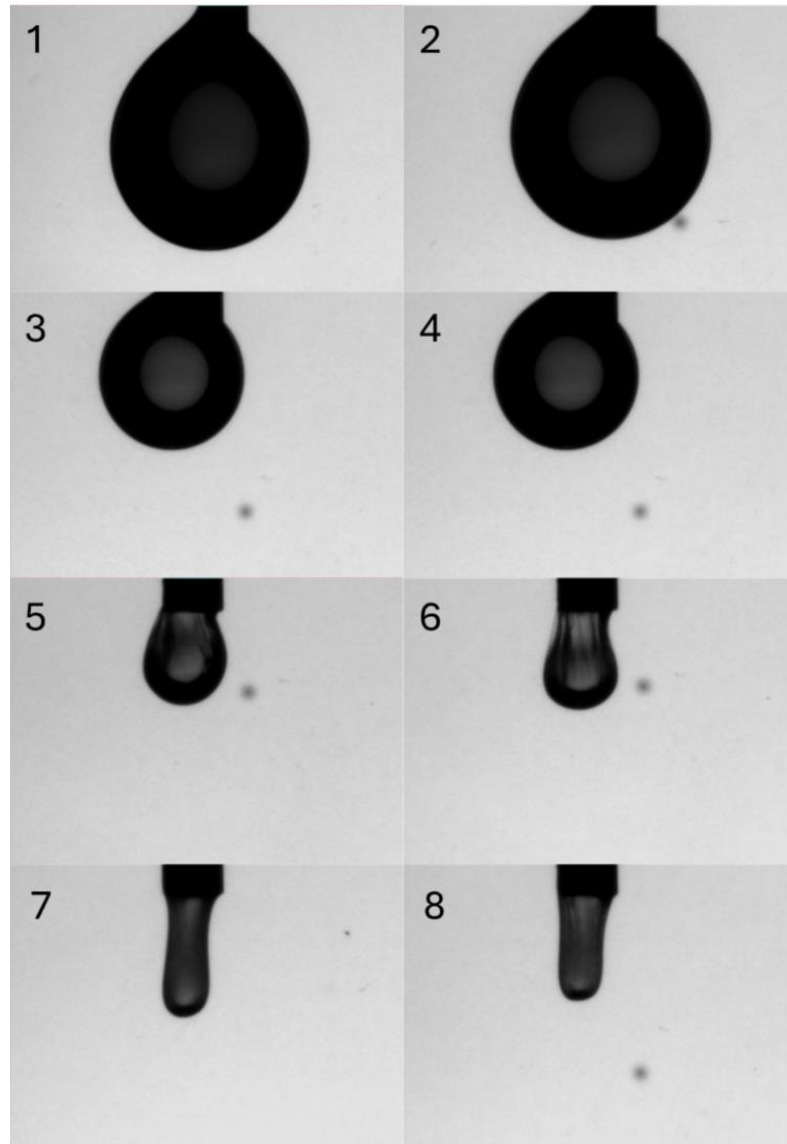
Conforme ilustrado na Figura 22, a adição de praziquantel não comprometeu a estabilidade das emulsões, com sinais de separação de fases surgindo apenas a partir do 30º dia de armazenamento. De forma notável, aos 120 dias (Figura 22-b), as emulsões contendo praziquantel apresentaram menor separação de fases (destacada pela linha vermelha), sugerindo uma estabilidade aprimorada na presença do fármaco. Essa estabilidade pode estar relacionada à migração do lignossulfonato para a interface óleo-água, onde interações hidrofóbicas e aromáticas favorecem a agregação e organização das moléculas, resultando na formação de microestruturas capazes de encapsular o praziquantel. Esse fenômeno é consistente com a hipótese proposta por Piombino e colaboradores (2020), que descreveram a formação de microcápsulas a partir de interações específicas entre o lignossulfonato e compostos hidrofóbicos.

Além disso, Ruwoldt e colaboradores (2020) demonstraram que filmes de lignossulfonato formados na interface água-xileno apresentam comportamento viscoelástico acentuado em altas concentrações, especialmente na presença de cátions multivalentes, os quais promovem pontes intermoleculares entre as cadeias poliméricas. Esse efeito resulta no aumento da resistência da camada interfacial e pode levar à gelificação. Os autores sugerem que esses efeitos estão alinhados com dois princípios amplamente aceitos: (i) a estabilização de emulsões por meio da formação de filmes interfaciais viscoelásticos e (ii) a tendência de maior estabilidade quando o agente estabilizante se encontra próximo de sua concentração de precipitação.

Para verificar se esse tipo de gelificação ocorre nas emulsões preparadas neste estudo, especialmente naquelas contendo a concentração mais elevada de lignossulfonato (5%), foi realizado um experimento semelhante ao método da gota pendente (descrito no item 4.22). Nesse teste, uma gota de 30 µL da solução aquosa com lignossulfonato foi cuidadosamente dispensada e mantida imersa em óleo de rícino por 20 minutos. Em seguida, o conteúdo da gota foi retraído lentamente, e observou-se a formação de uma estrutura semelhante a um “saco” gelificado e membranoso (Figura 23). Esse resultado corrobora as observações de Ruwoldt et al. (2020), sugerindo que, em concentrações elevadas, o lignossulfonato pode formar estruturas organizadas e parcialmente gelificadas na interface, o que contribui para a estabilidade da emulsão e favorece a retenção do praziquantel no interior das gotículas. Esse comportamento apresenta notável semelhança com o observado para saponinas vegetais, metabólitos anfífilos capazes de se auto-organizar em micelas e filmes interfaciais rígidos. Assim como as saponinas, o lignossulfonato combina segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos que promovem adsorção forte e estável na interface óleo/água, reduzindo a coalescência e aumentando a resistência mecânica

da película interfacial. Essa analogia reforça o potencial do lignossulfonato como um estabilizante multifuncional, unindo propriedades estruturais, tecnológicas e sustentáveis.

Figura 23. Retração da gota de uma solução coloidal aquosa de LSCaP em óleo de rícino.

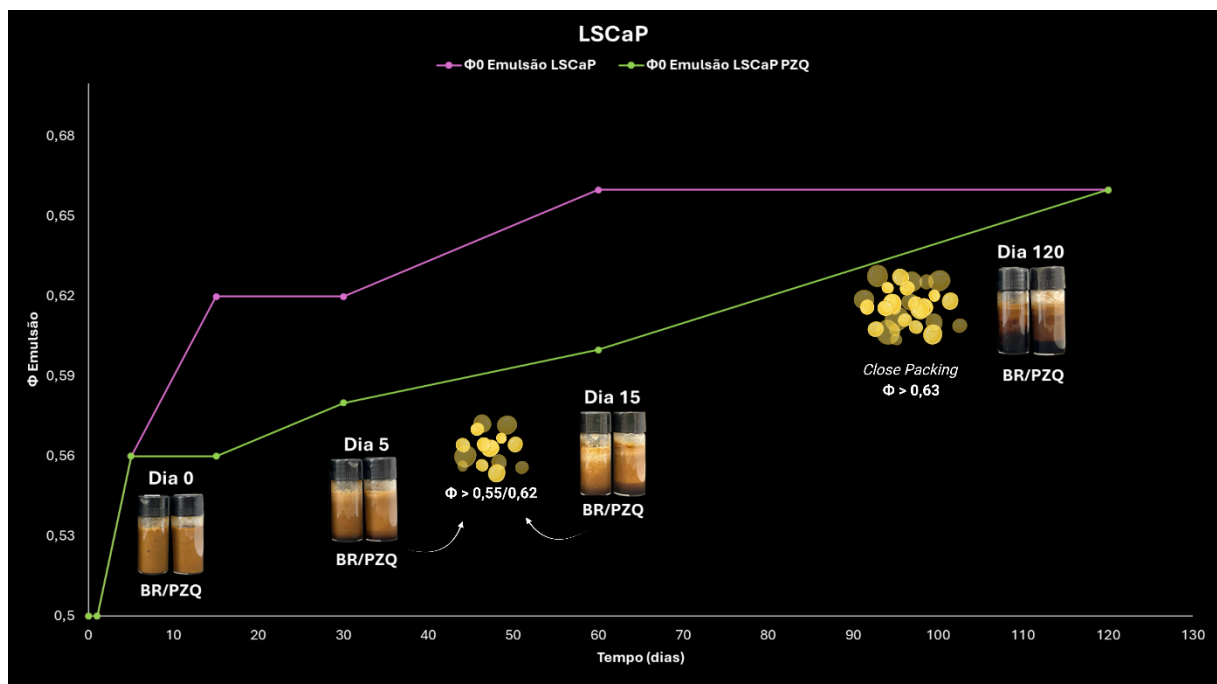


Legenda. Os números representam o início (número 1) e o fim da análise (número 8). No número 8 é possível observar a formação de um saco gelificado.

A fim de elucidar melhor os dados apresentados nas figuras 22 e 23, e entender melhor o processo de estabilidade das emulsões formuladas com o lignossulfonato purificado, análises das fotos foram realizadas para estudar o fenômeno de “*close packing*”, ou empacotamento fechado. Em emulsões, essa análise pode ser fundamental para a compreensão da estabilidade físico-química ao longo do tempo, pois refere-se ao empacotamento máximo possível de gotículas dispersas, ou seja, o ponto em que as gotículas ocupam praticamente todo o volume

disponível e começam a se “imprensar”, podendo sofrer deformações (Wang, et al. 2025). A análise é definida relacionando a fração volumétrica da emulsão (Φ) pelo tempo (Kim et. al., 2017). À medida que a fração volumétrica da fase dispersa aumenta (volume de gotículas em relação ao volume total da emulsão), as gotículas ficam mais “empacotadas” podendo sofrer deformações. Esse ponto é o chamado ponto de empacotamento fechado (*close packing limit*), que ocorre aproximadamente quando a fração volumétrica da fase dispersa atinge cerca de 0,64 a 0,74, dependendo da uniformidade das gotículas e da presença de deformação (Wang, et al. 2025). Essa medida é obtida analisando o tamanho do volume emulsionado e o tamanho total da emulsão. Dessa forma, as emulsões LSCaP e LSCaP PZQ foram analisadas e os resultados estão demonstrados na figura 24.

Figura 24. Análise de *close packing* das emulsões formuladas com lignossulfonato purificado.



Legenda. Evolução do *close packing* das emulsões durante 120 dias de armazenamento. A linha verde representa a formulação contendo apenas LSCaP, enquanto a linha roxa indica a formulação de LSCaP incorporada com praziquantel (PZQ). O parâmetro *close packing* está associado ao aumento da densidade de empacotamento das gotas, refletindo mudanças na organização e estabilidade estrutural das emulsões ao longo do tempo.

A evolução da fração volumétrica da fase dispersa (Φ) ao longo do tempo em emulsões contendo lignossulfonato cálcico (LSCaP), com e sem praziquantel (PZQ), revelou um comportamento bastante semelhante entre as formulações, indicando dinâmica comparável de compactação interna e reorganização estrutural. Em ambos os sistemas, observou-se um aumento progressivo de Φ , sugerindo perda gradual da fase contínua ou rearranjo das gotículas,

com implicações relevantes na estabilidade físico-química e nas propriedades viscoelásticas do sistema.

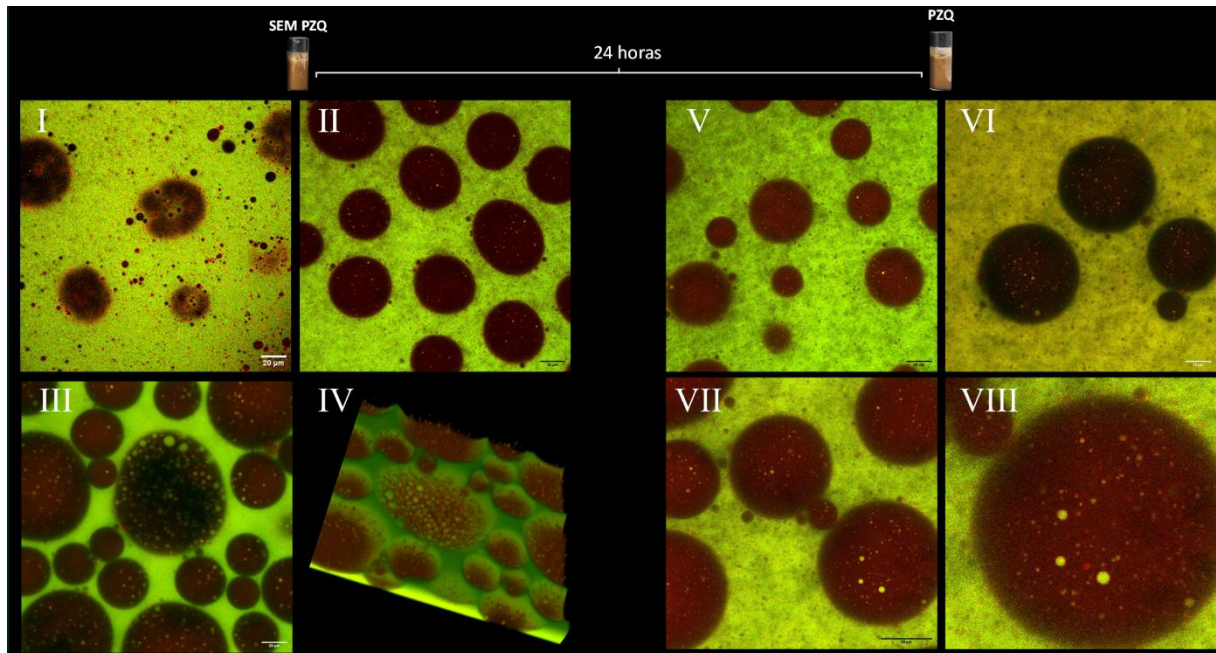
A fração volumétrica ultrapassou o valor crítico de $\Phi \approx 0,63$ por volta de 120 dias para as duas formulações, indicando a transição para um regime de *close packing*, no qual o contato interfacial e a deformação das gotículas passam a governar a microestrutura da emulsão. Esse comportamento é típico de sistemas densamente empacotados, nos quais ocorre transição de fluido para sólido mole ou gel, evidenciada visualmente por aumento da opacidade, perda de fluidez e formação de uma estrutura mais coesa e resistente à separação de fases.

A ausência de diferenças significativas entre as curvas de Φ para as formulações com e sem PZQ sugere que a presença do fármaco não interferiu de forma substancial na cinética de reorganização estrutural nem na estabilidade interfacial. Isso pode indicar que o PZQ está bem compatibilizado na matriz emulsificada, sem afetar criticamente a viscosidade da fase contínua ou a mobilidade das gotículas. Tal comportamento é desejável em sistemas destinados à liberação controlada, pois garante estabilidade estrutural sem comprometer a incorporação do princípio ativo.

O valor crítico de Φ observado está em concordância com o *random close packing* teórico ($\sim 0,64$), reforçando a validade da abordagem volumétrica como método robusto para monitoramento da evolução estrutural de emulsões ao longo do tempo. A correlação visual com as imagens dos frascos também destaca a relevância dessa métrica como ferramenta preditiva de estabilidade e envelhecimento em formulações complexas.

Além das análises macroscópicas de estabilidade, foram realizadas análises em microscopia confocal de varredura a laser para comparar emulsões com e sem praziquantel (figura 25). Ambas as formulações foram preparadas com 5% de lignossulfonato. As figuras 25.I-IV representam emulsões sem o fármaco, enquanto as figuras 25.V-VIII mostram emulsões contendo praziquantel. Em ambas, foi observada uma configuração de emulsão múltipla do tipo óleo-água-óleo, com a fase aquosa destacada em verde (fluoresceína), o lignossulfonato em vermelho (rodamina) e o óleo sem fluorescência, em preto. De forma mais evidente, as emulsões múltiplas são mais claras nas emulsões sem praziquantel, como observado nas figuras 25.III-IV. Já as emulsões com praziquantel apresentaram gotículas mais esféricas e bem definidas, sugerindo que a presença do fármaco influencia diretamente na morfologia do sistema.

Figura 25. Imagens de microscopia de confocal de emulsões utilizando LSCaP 5%, com e sem praziquantel.



Legenda. I–IV: imagens de microscopia confocal de emulsões sem praziquantel, evidenciando a presença de emulsões múltiplas; IV: reconstrução tridimensional da emulsão. V–VIII: imagens de microscopia confocal de emulsões contendo praziquantel, também demonstrando a formação de emulsões múltiplas. Em verde: ftalocianina corando a fase aquosa; em vermelho: rodamina corando o lignossulfonato; óleo sem corantes.

Emulsões múltiplas são sistemas coloidais com estrutura hierárquica, onde uma emulsão primária é encapsulada em uma segunda fase contínua, formando morfologias como água em óleo em água (a/o/a) ou óleo em água em óleo (o/a/o). Essa arquitetura resulta da interação entre as propriedades químicas das fases e a escolha de emulsificantes, que regulam tanto a estabilidade quanto o tamanho das gotículas. Do ponto de vista morfológico, essas emulsões podem ser classificadas como microcápsulas (uma única gotícula aquosa encapsulada em uma gotícula oleosa), multivesiculares (várias gotículas aquosas encapsuladas em uma gotícula de óleo) ou microesferas (estrutura interna complexa com gotículas duplas no óleo) (Ding et al., 2019; Florence et al., 1980). Com base na figura 22.b, as emulsões sem praziquantel podem ser classificadas como emulsões multivesiculares, como evidenciado nas imagens confocais (figura 25.I-IV), onde gotículas aquosas são claramente internalizadas nas gotículas de óleo. Por outro lado, as emulsões com praziquantel apresentaram características de microesferas (figura 24.V-VIII), com pequenas estruturas internalizadas dentro das gotículas oleosas. Esses resultados corroboram estudos prévios de Florence et al. (1980) e Ding et al. (2019), reforçando a relação entre morfologia, composição e estabilidade das emulsões múltiplas.

5.2.2 Desenvolvimento da emulsão utilizando lignossulfonato ultrassonificado – LSCaU 30

Conforme discutido no item anterior, a formulação F 50%, contendo 5% de lignossulfonato, foi selecionada para os ensaios subsequentes devido à sua boa estabilidade e desempenho nas análises preliminares. Essa mesma proporção (50% de óleo de rícino e 5% de lignossulfonato) foi empregada nos testes de caracterização das emulsões preparadas com lignossulfonato previamente submetido ao processo de ultrassonificação. Os resultados de estabilidade macroscópica dessas emulsões estão apresentados nas figuras 26.a-b, e indicam que a separação de fases se tornou mais evidente apenas após 60 dias de armazenamento. Esse comportamento sugere uma melhoria significativa na estabilidade das emulsões obtidas com o lignossulfonato ultrassonificado, quando comparadas àquelas formuladas com o lignossulfonato sem tratamento prévio.

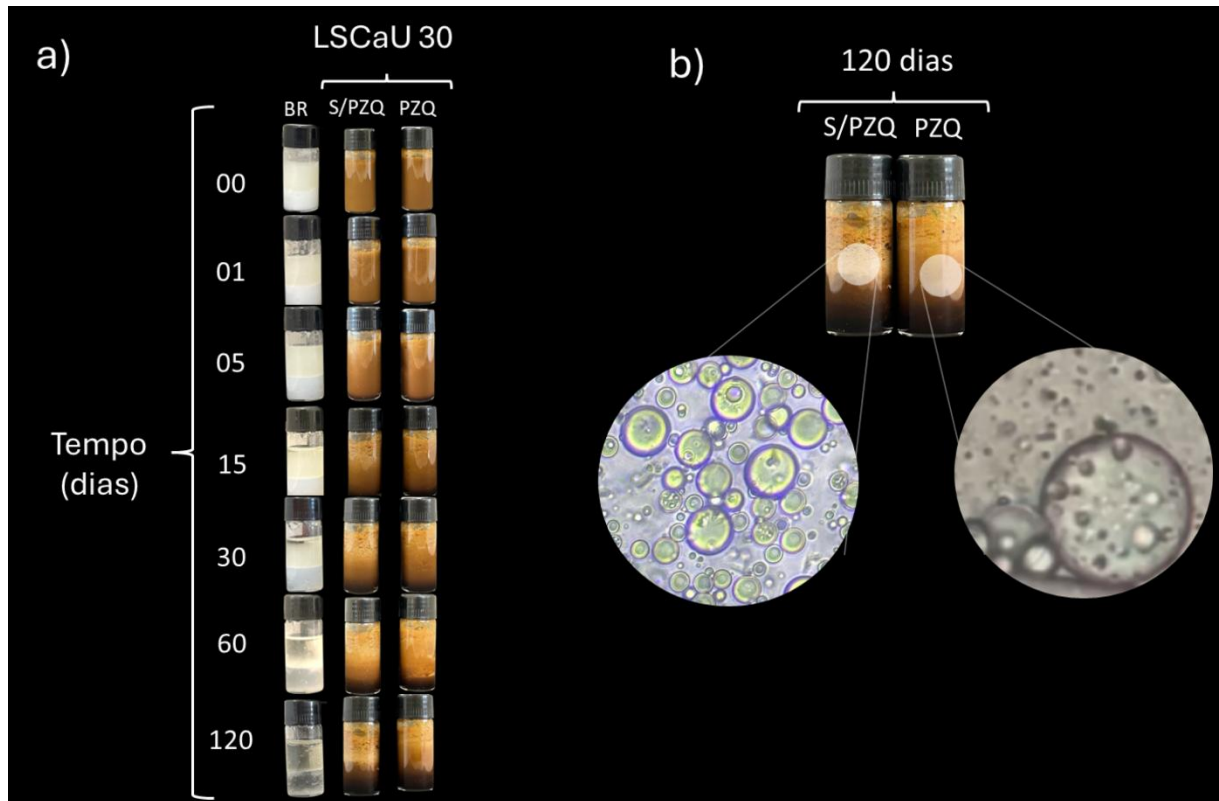
Além da maior estabilidade ao longo do tempo, o padrão morfológico das gotículas formadas nas emulsões com lignossulfonato ultrassonificado (LSCaU 30) manteve-se semelhante ao observado nas emulsões contendo LSCaP não tratado, conforme ilustrado na figura 26.b. Esse resultado indica que o processo de ultrassonificação não alterou significativamente a morfologia das gotículas, mas contribuiu de maneira positiva para a estabilidade do sistema, possivelmente por promover uma melhor dispersão das partículas de lignossulfonato e favorecer sua adsorção na interface óleo-água.

Esse conjunto de resultados aponta para uma possível estabilização simbiótica promovida pela presença simultânea de lignossulfonato em sua forma molecular (atuando como surfactante) e partículas de lignossulfonato (atuando como estabilizantes do tipo Pickering). Em outras palavras, a coexistência de moléculas com alto equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL), como o lignossulfonato solúvel, com frações menos hidrofílicas na forma particulada, pode ter favorecido a formação de sistemas emulsionados múltiplos, como os observados neste estudo.

A literatura aponta que altos valores de EHL e concentrações adequadas de surfactantes hidrofílicos estão entre os principais fatores que contribuem para a estabilidade de emulsões múltiplas. Garti et al. (1988) demonstraram que o uso de surfactantes poliméricos pode melhorar significativamente a estabilidade de emulsões do tipo água em óleo (A/O), ao criar interfaces mais robustas que reduzem a dessorção e a migração de moléculas estabilizadoras. Ademais, os autores observaram que excelentes níveis de estabilidade podem ser alcançados mesmo em formulações com altas frações de fase interna (até 50% em peso) e baixas concentrações de surfactante polimérico (3–5% em peso). Esses achados corroboram com os resultados do presente estudo, especialmente nas formulações contendo 5% de lignossulfonato,

que apresentaram estabilidade prolongada e morfologia consistente ao longo do tempo (Panigrahi et al., 2021).

Figura 26. Estabilidade macroscópica das emulsões formuladas com LSCaU 30 com e sem praziquantel.



Legenda. (a) Avaliação da estabilidade das emulsões contendo praziquantel ao longo de um período de até 120 dias, observando-se a manutenção da morfologia e dispersão das gotas na matriz. (b) Imagem ampliada referente ao 120º dia, destacando a forma e integridade das gotas em cada tipo de emulsão. Os círculos em destaque indicam o contorno das gotas, facilitando a visualização das mudanças ou estabilidade do formato das mesmas durante o armazenamento.

Estudos realizados no grupo de pesquisa BIOPOL (dados não publicados) também indicam que os lignossulfonatos possuem um EHL teórico > 20 , baseado na determinação experimental do EHL. Contudo, o EHL efetivo pode ser maior, considerando que a estimativa não leva em conta efeitos estéricos, enquanto o grupo sulfonato contribui significativamente para aumentar o EHL (Setiati et al., 2018). Poucos estudos analisam a estabilidade de diferentes óleos emulsionados com lignossulfonatos, mas evidências indicam que solventes aromáticos, como tolueno e xileno (EHL = 14–15), produzem emulsões mais estáveis do que óleos minerais (EHL = 10) (Ruwoldt et al., 2020). Isso sugere que os lignossulfonatos, com sua estrutura poliaromática e caráter anfifílico, possuem maior afinidade por óleos aromáticos em comparação aos parafínicos, o que justifica sua classificação como estabilizadores de emulsões O/A. No presente estudo, foi utilizado óleo de rícino — um óleo vegetal renovável com EHL

entre 14 e 16 — cuja escolha reforça a tendência de formulações contendo ingredientes naturais, alinhadas a critérios de sustentabilidade e à valorização de recursos de origem vegetal. Além do benefício ambiental, óleos vegetais como o rícino são reconhecidos por suas propriedades tecnológicas, incluindo contribuição para a estabilização interfacial e potencial ação como promotores de permeação cutânea ou mucosa, devido à presença de triglicerídeos e ácidos graxos específicos. Nesse contexto, a incorporação do praziquantel no óleo de rícino permitiu não apenas explorar sua estabilidade dentro da emulsão, mas também avaliar possíveis ganhos na biodisponibilidade e absorção, integrando estratégias sustentáveis e funcionais no desenvolvimento farmacotécnico.

Com o objetivo de compreender mais profundamente o mecanismo de estabilização das emulsões formuladas com lignossulfonato cálcico ultrassonificado (LSCaU), análises de *close packing* também foram realizadas para essas emulsões, com base nas imagens de estabilidade apresentadas na Figura 26. Os resultados dessas análises estão sintetizados na figura 27.

A evolução da fração volumétrica (Φ) ao longo do tempo revelou um comportamento marcadamente distinto entre as emulsões estabilizadas com LSCaU e aquelas formuladas com lignossulfonato não ultrassonificado (LSCaP), especialmente no que diz respeito à velocidade de compactação estrutural e à estabilidade do sistema. Desde os primeiros dias de armazenamento, observa-se um aumento significativo da Φ nas emulsões LSCaU 30, tanto na formulação controle quanto na contendo praziquantel (LSCaU 30 PZQ), atingindo valores superiores a 0,60 já aos 15 dias. Ambas ultrapassam a fração crítica de *close packing* ($\Phi > 0,63$) nesse mesmo período, mantendo essa condição até pelo menos 120 dias. Esses dados indicam uma rápida transição para um regime de empacotamento denso, típico de estruturas esféricas compactadas.

Esse comportamento pode ser atribuído principalmente ao processo de ultrassonificação do lignossulfonato cálcico, que reduz o tamanho das partículas e aumenta sua área superficial, resultando em uma cobertura interfacial mais eficiente. Partículas menores e mais homogêneas também favorecem a estabilização do tipo Pickering, inibindo a coalescência das gotículas e promovendo a formação de estruturas estáveis e densas.

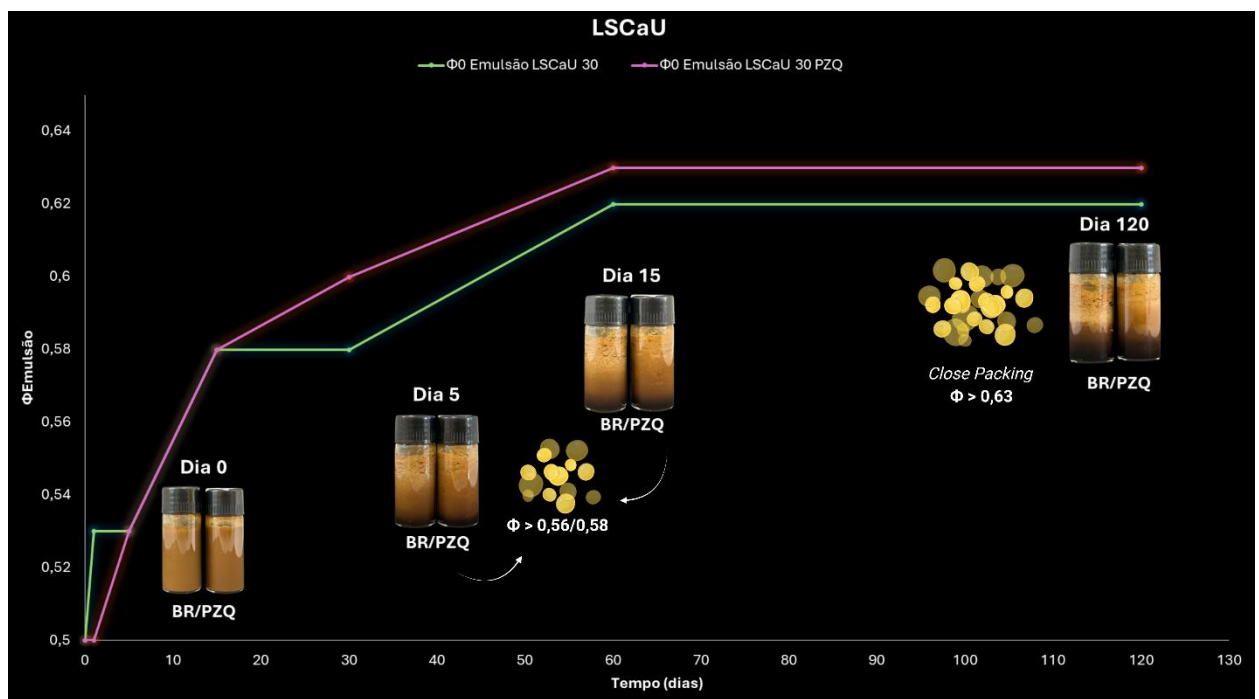
A incorporação de praziquantel na formulação (LSCaU 30 PZQ) não interferiu significativamente na dinâmica de compactação em comparação à emulsão controle sem o fármaco, comportamento distinto do observado nas formulações com LSCaP. Isso sugere que, nas emulsões estabilizadas por partículas ultrassonificadas, a barreira física formada na interface é suficientemente robusta para resistir às interferências moleculares promovidas pelo

fármaco. A estabilidade visual das amostras, mesmo após 120 dias, reforça esse achado, evidenciando emulsões homogêneas e sem separação de fases perceptível.

Adicionalmente, o rápido alcance do regime de *close packing* pode estar relacionado à baixa mobilidade das gotículas estabilizadas por partículas sólidas, o que limita a reorganização interna e favorece a formação de estruturas próximas ao ideal de esferas rígidas. Esse arranjo pode resultar em redes semi-sólidas, conferindo propriedades viscoelásticas similares às de géis estruturados — características desejáveis em sistemas de liberação controlada e formulações tópicas.

Com o intuito de avaliar a possível gelificação do lignossulfonato ultrassonificado em contato com o óleo de rícino, foram conduzidos ensaios visuais cujos resultados estão ilustrados na Figura 28. Assim como observado para o LSCaP, a amostra contendo LSCaU também apresentou formação de um “saco gelificado”, indicando que o tratamento por ultrassonificação não comprometeu as propriedades reológicas do material. Isso reforça seu potencial como agente estabilizante em sistemas emulsificados contendo óleo de rícino.

Figura 27. Análise de *close packing* das emulsões formuladas com lignossulfonato ultrassonificado.



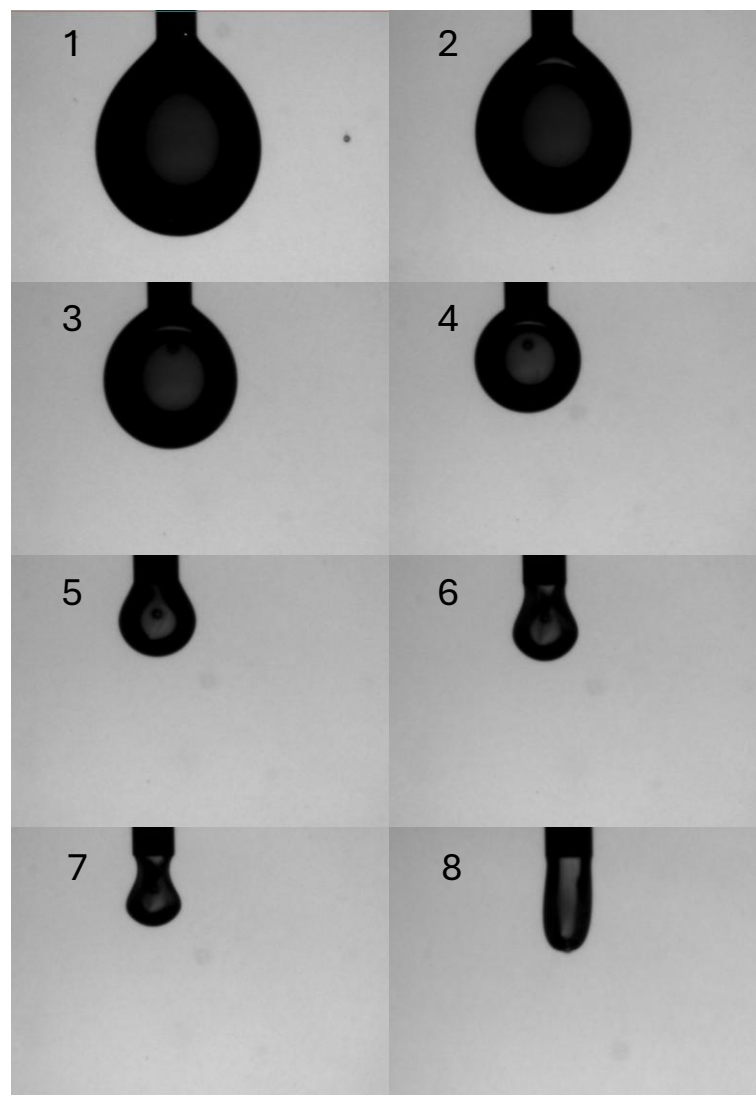
Legenda. Análise do *close packing* das emulsões ao longo de 120 dias de armazenamento. A linha verde representa a Emulsão LSCaU 30 sem praziquantel, enquanto a linha roxa indica a Emulsão LSCaU 30 contendo praziquantel (PZQ). O gráfico evidencia as variações na compactação das gotas nas emulsões durante o período estudado.

Por fim, análises por microscopia confocal de varredura a laser foram realizadas para caracterizar a morfologia interna das emulsões formuladas com LSCaU 30. As imagens

correspondentes às emulsões sem praziquantel estão apresentadas nas Figuras 29.I–IV, enquanto aquelas contendo o fármaco estão nas Figuras 29.V–VIII.

Os resultados indicam que, independentemente da presença de praziquantel, a formulação com LSCaU 30 favorece a formação de emulsões múltiplas do tipo óleo-água-óleo (O/A/O). Isso foi evidenciado pela presença da fase aquosa (marcada em verde com fluoresceína), da fase de lignossulfonato (em vermelho, corante rodamina) e do óleo de rícino (não fluorescente, em preto), conforme indicado pelas setas vermelhas nas imagens. Esse arranjo estrutural complexo confirma a capacidade do lignossulfonato ultrassonificado de organizar sistemas emulsionados com arquitetura interna avançada, reforçando sua aplicabilidade em formulações com exigências tecnológicas específicas.

Figura 28. Retração da gota de uma solução coloidal aquosa de LSCaU 30 em óleo de rícino.

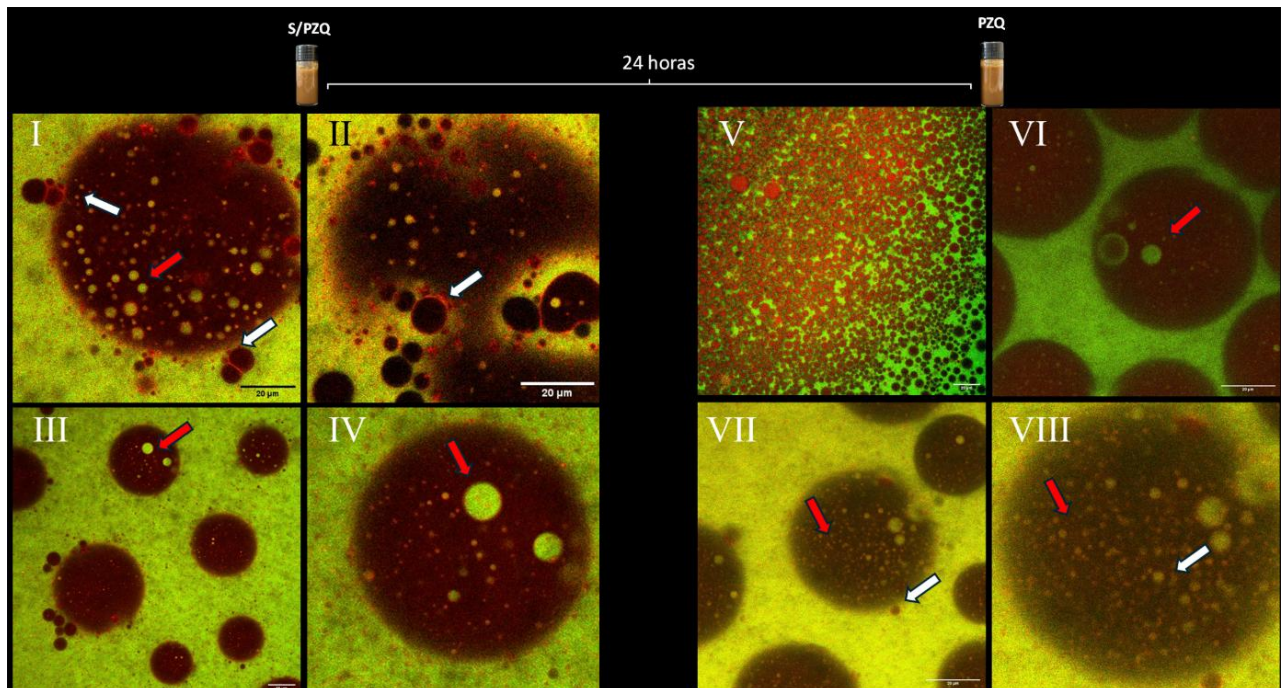


Legenda. Os números correspondem aos diferentes momentos ao longo do período de análise, com o número 1 representando o início e o número 8 o término da observação. No momento 8, nota-se a

formação de uma estrutura característica em formato de saco gelificado, indicando um possível processo de agregação ou organização da matriz na emulsão. Essa mudança sugere alterações na estabilidade e na morfologia do sistema ao longo do tempo.

Adicionalmente, observou-se que o uso de LSCaU 30 resultou na formação de um maior número de gotículas, como destacado na Figura 29.V. Os dados também sugerem que a estabilização das emulsões ocorreu por efeito Pickering, conforme evidenciado pela presença do lignossulfonato (seta vermelha) circundando as gotículas de óleo, indicado pela seta branca. Esses achados confirmam o papel do lignossulfonato na estabilização das emulsões analisadas.

Figura 29. Imagens de microscopia de confocal de emulsões utilizando LSCaU 30 com e sem praziquantel.



Legenda. I–IV: imagens de microscopia confocal de emulsões sem praziquantel, evidenciando a formação de emulsões múltiplas; V–VIII: imagens de emulsões contendo praziquantel, também demonstrando a presença de emulsões múltiplas. Em verde, ftalocianina corando a fase aquosa; em vermelho, rodamina corando o lignossulfonato; óleo sem corantes. Setas vermelhas indicam o efeito Pickering evidenciado, enquanto setas brancas apontam para gotículas de óleo estabilizadas pelo efeito Pickering.

A estabilização de emulsões por partículas, comumente denominadas emulsões de Pickering, requer, além de uma fase oleosa e uma fase aquosa, a presença de uma fase sólida. Essa fase sólida geralmente está presente na forma de uma dispersão coloidal, com tamanhos de partículas variando entre aproximadamente 100 nm e 1 µm. Diferentemente das emulsões convencionais que utilizam surfactantes, as partículas sólidas formam uma barreira estérica ao redor das gotículas dispersas, inibindo sua coalescência (Horozov et al., 2006). A eficiência desse mecanismo está diretamente relacionada a fatores como a molhabilidade parcial das

partículas, com ângulo de contato ideal entre 50° e 80°, e sua energia de adsorção, que reduz a energia livre do sistema e confere alta estabilidade (Sun et al., 2022) Em virtude dessas características, as emulsões de Pickering apresentam elevada estabilidade, mesmo sob condições adversas, além de vantagens como a redução do uso de surfactantes químicos e maior compatibilidade ambiental.

No caso dos lignossulfonatos, a estabilização por partículas não é, geralmente, o mecanismo primário. Em soluções aquosas de baixa salinidade, os lignossulfonatos permanecem bem dissolvidos, estabilizando emulsões predominantemente por adsorção molecular na interface óleo-água. No entanto, condições específicas, como a indução de precipitação, podem alterar o mecanismo de estabilização, favorecendo a formação de emulsões de Pickering (Ruwoldt et al., 2020).

Neste estudo, a ultrassonificação demonstrou ser eficaz no aumento da concentração de partículas de lignossulfonato, conforme evidenciado por análises de rastreamento de partículas (NTA). Esse aumento na concentração de partículas pode ter facilitado uma adsorção mais eficiente na interface, promovendo a estabilização por efeito Pickering (figura 24). Estudos prévios corroboram essa hipótese. Binks et al. (2005) demonstraram que a concentração de partículas influencia diretamente sua molhabilidade, podendo levar à transição de emulsões simples para emulsões múltiplas. Whitby et al. (2019) relataram a formação de emulsões múltiplas utilizando sílica fumada, observando que altas concentrações de partículas resultaram na colisão, coalescência e encapsulamento de gotas de água em óleo, formando estruturas do tipo água em óleo em água (a/o/a). Esses autores também destacaram maior uniformidade no tamanho das gotas em concentrações superiores a 3,7% em peso, resultados que corroboram as observações do presente estudo.

5.2.3 Análise térmica do lignossulfonato e das emulsões

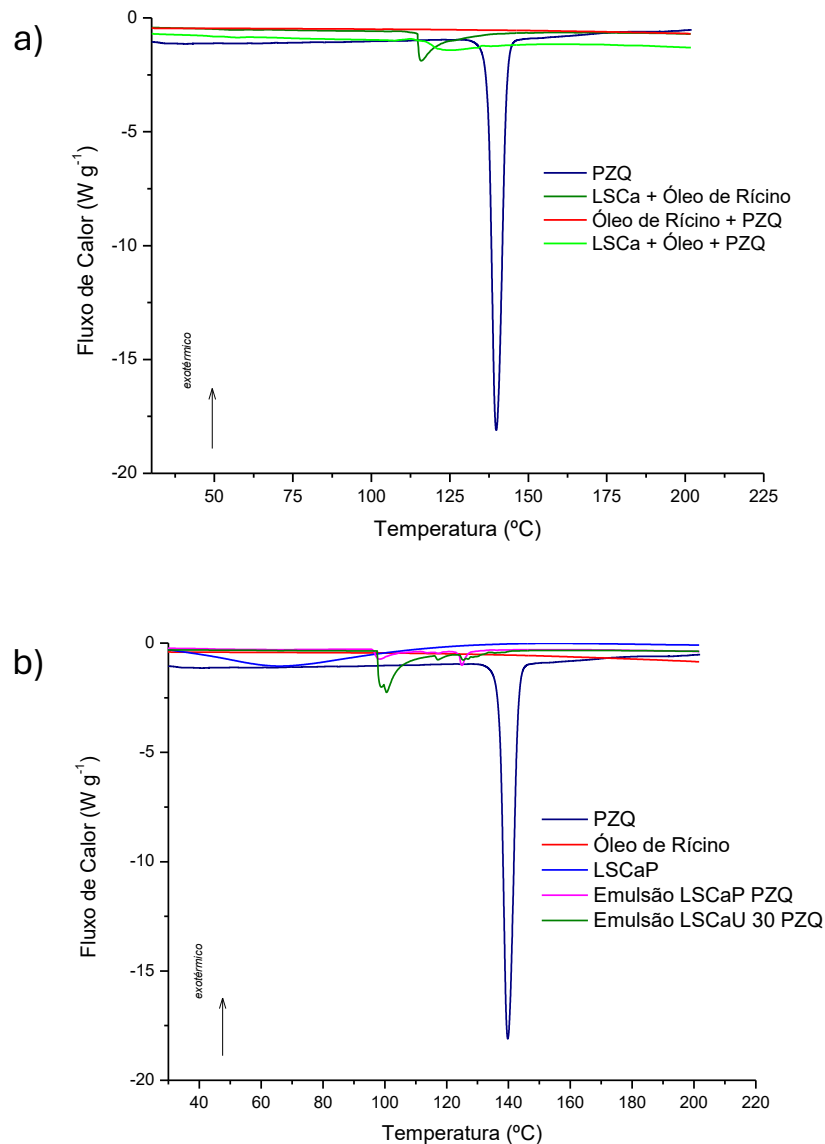
A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a Termogravimétrica (TG) são técnicas termoanalíticas amplamente empregadas na caracterização de sistemas complexos, como emulsões. Essas metodologias são fundamentais para avaliar a estabilidade térmica dos componentes e compreender seu comportamento durante o armazenamento e em processos industriais.

Neste estudo, a análise térmica por DSC foi utilizada para investigar o perfil térmico do praziquantel (PZQ), do óleo de rícino, do lignossulfonato purificado e das emulsões desenvolvidas, na faixa de temperatura de 40 °C a 220 °C. O principal objetivo foi identificar

possíveis interações entre os componentes da formulação, além de verificar alterações na estrutura físico-química do fármaco após sua incorporação às emulsões. Os resultados obtidos estão apresentados na figura 30.

Na análise do PZQ puro (figura 30.a), representado pela linha preta, foi observado um pico endotérmico agudo e bem definido próximo a 140 °C, com intensidade em torno de -18 W g^{-1} , correspondendo ao ponto de fusão do composto. Esse evento térmico destaca a alta pureza e o grau de cristalinidade do fármaco. Além disso, a rápida recuperação da linha base após o pico indica que não houve degradação térmica significativa do praziquantel dentro da faixa de temperatura avaliada, o que corrobora com as observações feitas por D'Abbrunzo et al. (2023), que descreveram de forma abrangente o comportamento sólido do PZQ, ressaltando sua estabilidade térmica e a nitidez do evento de fusão como marcadores de identidade físico-química do composto.

Figura 30. Análise de calorimetria exploratória diferencial.



Legenda. (a) Curvas de DSC das misturas: linha azul representa o praziquantel; linha verde escura corresponde à mistura LSCaP com óleo de rícino; linha vermelha indica o óleo de rícino puro; linha verde claro refere-se à mistura LSCa com óleo de rícino e praziquantel. (b) Curvas de DSC das emulsões: linha preta representa o praziquantel; linha vermelha indica o óleo de rícino; linha azul corresponde à emulsão LSCaP; linha rosa à emulsão LSCaP contendo praziquantel (PZQ); linha verde à emulsão LSCaU 30 contendo praziquantel (PZQ).

Com relação ao óleo de rícino (linha vermelha), esse demonstrou um perfil térmico relativamente estável ao longo de toda a análise, sem transições térmicas marcantes. A ausência de picos endotérmicos ou exotérmicos está de acordo com a natureza do material, já que óleos vegetais, por serem líquidos viscosos à temperatura ambiente e compostos por uma mistura de triglicerídeos, não apresentam transições de fase bem definidas nessa faixa térmica. Esse comportamento também foi evidenciado nos estudos de Babu Borugadda e Goud (2013), que demonstraram a estabilidade térmica de óleos vegetais como o óleo de rícino e sua resistência à oxidação em condições moderadas de aquecimento. Rodrigues et al. (2005) também relataram

comportamento semelhante em análises térmicas de compostos lipídicos, apontando que as pequenas flutuações na linha de base em temperaturas mais elevadas podem estar associadas ao início de processos de oxidação ou quebra de ácidos graxos, o que parece se manifestar de forma incipiente neste estudo.

A curva referente ao lignossulfonato purificado (LSCaP, linha azul) (figura 30.b) exibiu um evento endotérmico suave na faixa de 60 °C a 80 °C, que pode estar associado à perda de umidade adsorvida ou à desidratação de grupos hidroxila presentes na estrutura do polímero. A ausência de um pico de fusão definido é compatível com a natureza amorfa do material, que pode apresentar transições vítreas (T_g) e rearranjos estruturais em temperaturas intermediárias. Esse perfil térmico é coerente com os resultados de Wibowo et al. (2023), que atribuíram tais eventos ao comportamento higroscópico dos lignossulfonatos e às ligações de hidrogênio instáveis que podem ser rompidas com o aquecimento. Adicionalmente, Hemmilä et al. (2020) observaram que a ausência de picos de fusão bem definidos é uma característica comum de ligninas modificadas, sobretudo aquelas obtidas por processos industriais ou extraídas por métodos severos, como a sulfitação, o que reforça a natureza amorfa e termicamente resistente do material avaliado.

Com relação às emulsões, essas revelaram perfis térmicos mais complexos, indicando possíveis interações entre os componentes. A emulsão LSCaP PZQ (linha rosa, figura 30.b) apresentou múltiplos picos endotérmicos na faixa de 100 °C a 140 °C, com um leve deslocamento e atenuação do pico de fusão do PZQ. Essa modificação pode ser interpretada como indicativo de que o fármaco se encontra parcialmente disperso ou solubilizado na matriz polimérica, o que compromete sua organização cristalina original. A forma menos definida da transição térmica, associada à ausência de um pico tão agudo quanto o observado para o PZQ puro, é compatível com a formação de um sistema amorfo ou semicristalino, no qual o fármaco se encontra interagindo com o excipiente. Esses dados corroboram com Mengarda e colaboradores (2025), que observaram os mesmos resultados ao analisar DSC do PZQ em sistemas autoemulsionáveis, utilizando o óleo de rícino.

A emulsão LSCaU 30 PZQ (linha verde, figura 30.b) apresentou um comportamento térmico ainda mais alterado, com um evento endotérmico acentuado e deslocado para aproximadamente 100 °C. Esse perfil pode sugerir uma maior instabilidade térmica quando comparada à emulsão LSCaP PZQ, podendo indicar uma interação mais intensa entre os constituintes da formulação. A antecipação do evento térmico, acompanhada da diminuição expressiva na intensidade do pico, sugere a formação de um sistema com maior grau de solubilização do fármaco, ou mesmo a ocorrência de um fenômeno eutético. A ausência do pico

de fusão característico do PZQ nas duas emulsões, especialmente na LSCaU 30 PZQ, reforça a hipótese de que o fármaco se encontra em estado amorfo ou molecularmente disperso nos sistemas emulsionados, o que pode favorecer sua solubilidade e, por consequência, sua biodisponibilidade.

Quando comparada a curva das emulsões e de seus componentes isolados, é perceptível que as interações entre o óleo de rícino, o lignossulfonato e o PZQ alteram significativamente os eventos térmicos das formulações. O lignossulfonato, em particular, parece contribuir para a proteção térmica do fármaco, influenciando positivamente a estabilidade térmica do sistema. Assim, os dados de DSC indicam que o PZQ pode sofrer importantes modificações estruturais ao ser incorporado em emulsões utilizando óleo de rícino e lignossulfonato como surfactante, perdendo parte de sua cristalinidade e tornando-se termicamente mais estável, especialmente na presença do lignossulfonato.

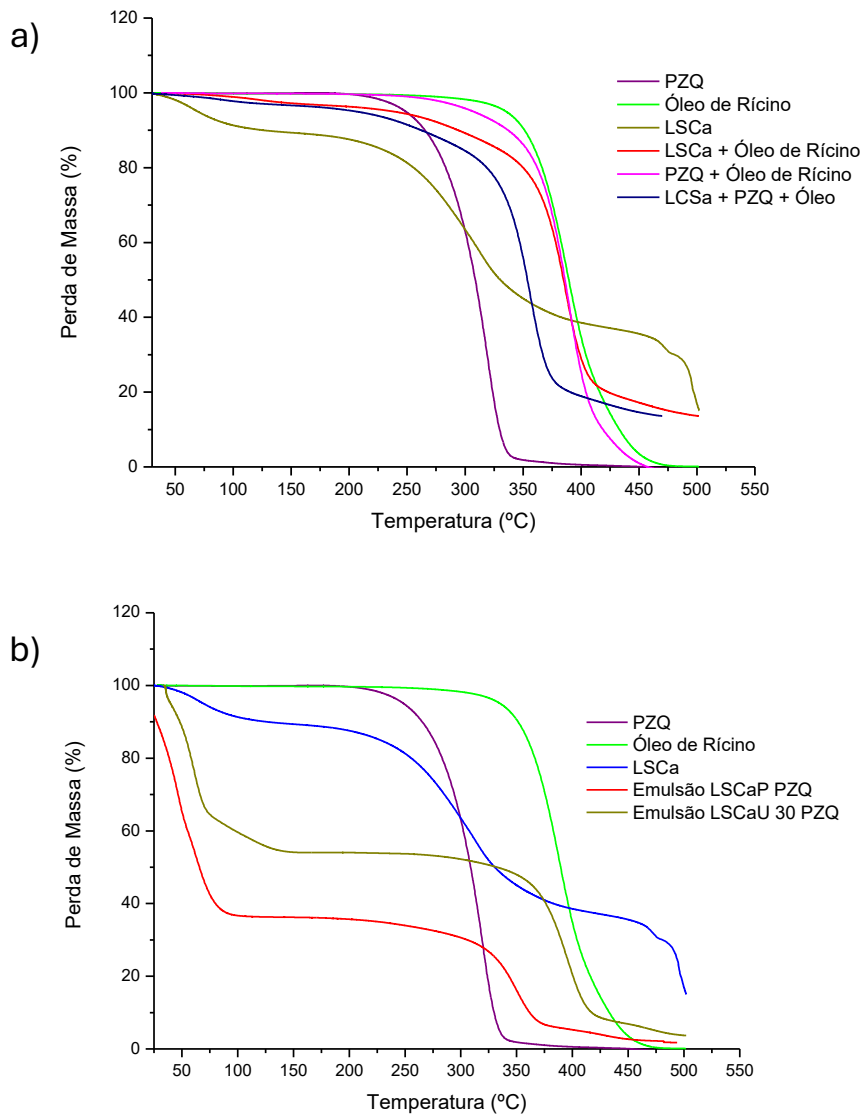
A análise termogravimétrica (TG), apresentada na figura 31, permitiu avaliar o perfil de estabilidade térmica e o comportamento de decomposição dos componentes individuais (PZQ, óleo de rícino e lignossulfonato) bem como das emulsões preparadas com esses materiais.

A amostra de PZQ apresentou uma única etapa principal de decomposição térmica, iniciando-se por volta de 320 °C e finalizando próximo a 400 °C, com perda de massa acentuada e resíduo final praticamente nulo (figura 31.a). Esse comportamento é característico de compostos orgânicos relativamente puros e com baixa tendência à carbonização residual, indicando decomposição completa do fármaco sob aquecimento. Chai et al. (2013) já haviam descrito que o praziquantel apresenta estabilidade térmica até cerca de 300 °C, com posterior degradação abrupta relacionada à quebra de suas ligações internas. Esses achados são consistentes com De Almeida et al. (2012), que, ao avaliarem nanopartículas lipídicas contendo PZQ, observaram perfil térmico semelhante para o fármaco livre, confirmando sua decomposição em uma única etapa térmica majoritária, sem formação de resíduos carbonáceos significativos.

Com relação ao óleo de rícino (linha verde), esse apresentou perfil de degradação semelhante, com início em torno de 350 °C e finalização próxima a 470 °C, refletindo a volatilização dos ácidos graxos e a decomposição dos triglicerídeos (figura 31.a). O baixo resíduo final também evidencia a natureza predominantemente orgânica e volátil do composto. Estudos conduzidos por Yang e Hrymak (2011) demonstraram que, durante o aquecimento de emulsões contendo óleo de rícino, a decomposição ocorre de forma contínua, com liberação de componentes voláteis típicos de óleos vegetais ricos em ácidos graxos insaturados. Esse

comportamento térmico é importante para a avaliação de compatibilidade com outros materiais em formulações termoestáveis.

Figura 31. Gráfico da análise termogravimétrica.



Legenda. (a) Curvas de TG das misturas: linha azul – praziquantel (PZQ); linha verde – óleo de rícino; linha verde escura – LSCa; linha vermelha – mistura de LSCa e óleo de rícino; linha rosa – mistura de PZQ e óleo de rícino; linha azul escura – mistura de LSCa, PZQ e óleo de rícino. (b) Curvas de TG das emulsões: linha roxa – praziquantel (PZQ); linha verde – óleo de rícino; linha azul – LSCa; linha vermelha – emulsão LSCaP contendo PZQ; linha verde escura – emulsão LSCaU 30 contendo PZQ.

A curva do lignossulfonato (linha marrom) exibiu múltiplas etapas de perda de massa. A primeira, ocorrendo até aproximadamente 150 °C, pode ser atribuída à liberação de água adsorvida, comportamento comum em materiais higroscópicos com estrutura hidroxilada. Em seguida, a faixa entre 200 °C e 350 °C sugere uma degradação progressiva dos grupos sulfonatos e de cadeias laterais alifáticas (figura 30.a). Por fim, entre 350 °C e cerca de 500 °C,

observa-se a degradação térmica do esqueleto fenólico-lignínico, característico das macromoléculas de lignina modificada. Esses eventos térmicos múltiplos estão de acordo com os dados apresentados por Liu et al. (2021), que atribuíram a degradação em múltiplas etapas à complexidade estrutural do lignossulfonato e à presença de diferentes domínios químicos em sua matriz. Wysocka et al. (2016) também relataram comportamento semelhante em estudos com lignossulfonato e seus derivados aplicados na formulação de espumas de poliuretano, reforçando a ideia de que a estabilidade térmica do material está fortemente relacionada à sua estrutura heterogênea e funcionalização química.

Com relação a emulsão LSCaU 30 PZQ (figura 31.b), que apresenta características de emulsão Pickering, também mostrou múltiplas etapas de perda de massa, mas com perfis mais graduais e deslocamento das perdas para temperaturas ligeiramente mais elevadas. Esse comportamento sugere que a estrutura particulada conferida pelo sistema Pickering proporciona maior estabilidade térmica, possivelmente devido à menor mobilidade das fases e à formação de uma barreira física que retarda a degradação. O resíduo final intermediário confirma essa proteção parcial promovida pela organização estrutural.

De forma geral, a análise TG mostrou que as emulsões, sobretudo a LSCaU 30 PZQ com efeito Pickering, aparentou apresentar uma melhor estabilidade térmica quando comparadas às misturas físicas dos componentes. Além disso, o comportamento de degradação em múltiplas etapas evidencia as interações entre os constituintes da formulação, sugerindo modificações estruturais e funcionais relevantes para futuras aplicações.

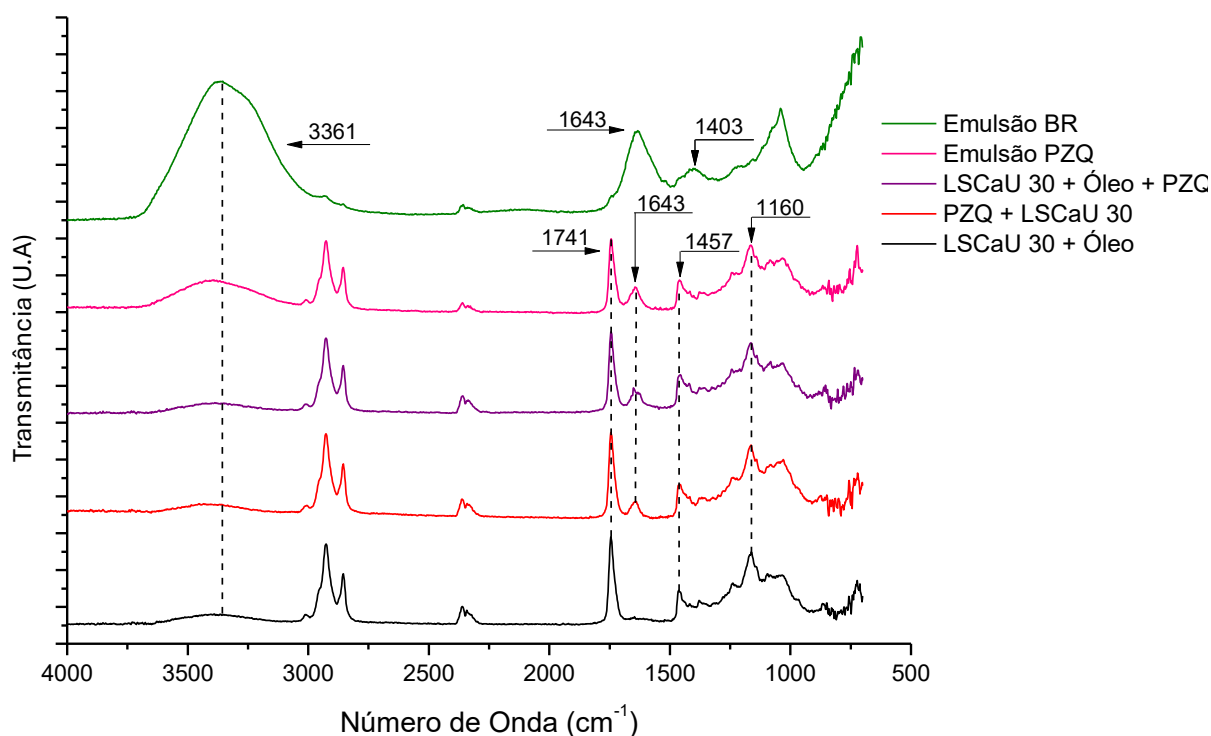
5.2.4 Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR

A técnica de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) permite identificar grupos funcionais presentes nos materiais utilizados na formulação, além de observar o espectro de vibração do fármaco encapsulado, possibilitando a avaliação de possíveis interações entre o fármaco e o material da matriz. Com base nas análises de caracterização e estabilidade, a emulsão contendo 5% de lignossulfonato e 50% de óleo de rícino apresentou os resultados mais satisfatórios, sendo selecionada para os ensaios subsequentes de caracterização. É importante destacar que as demais análises foram realizadas utilizando emulsões contendo lignossulfonato purificado (LSCaP) e lignossulfonato ultrassonificado por 30 segundos (LSCaU 30) Ademais, análises dos componentes das emulsões apenas misturados também foram realizados, a fim de elucidar possíveis alterações

nos espectros de FTIR que pudessem sugerir alguma modificação ou ligação química durante o processo de emulsão utilizando um ultrassom de ponta.

Os espectros de FTIR do praziquantel, óleo de rícino e de LSCaU 30 estão apresentados na figura 32. Esses apresentam bandas na região de 2922 e 2854 cm^{-1} referentes a estiramento assimétrico e simétrico de C-H e grupos metileno, referentes ao espectro do óleo de rícino (Karak et al., 2009). Ainda para o óleo de rícino, a figura 32 apresentam bandas em 1740 cm^{-1} referentes a estiramento de C=O e bandas em 1459 e 1348 cm^{-1} atribuídas a flexões de C-H assimétricas e simétrica (Khaskheli et al., 2015). Para LSCaU 30, o espectro de FTIR apresenta banda na região de 1040 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de CO, característico de álcoois primários encontrados em polissacarídeos naturais (Shen et al., 2008). Além disso, LSCaU 30 apresentaram bandas em 1227 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento simétrico e assimétrico de grupos $-\text{SO}_2$ (Katahira et al., 2018). Também são visíveis bandas nas regiões de 1403 cm^{-1} e 1602 cm^{-1} , associadas ao alongamento da ligação C=C, provenientes das vibrações da estrutura do anel aromático principal e bandas na região de 3390 cm^{-1} referentes a grupos OH (Du et al., 2023; Pei et al., 2020; Ouyang et al., 2006). A figura 32, apresenta, ainda, bandas representativas do PZQ em 1648 cm^{-1} referentes a estiramento de carbonila (C=O) (Zanolla et al., 2018); bandas em 1000 cm^{-1} atribuídas a vibrações de C-N e bandas em 1420 cm^{-1} referente ao plano angular simétrico de C-H (Salazar-Rosas et al., 2020); apresentando, também, bandas da região de 1450 – 1400 cm^{-1} indicativos de estiramento de carbonila (C=O) (Marques et al., 2018).

Figura 32. Estudo dos espectros de infravermelho da emulsão contendo LSCaU 30 e praziquantel.



Legenda. espectro de infravermelho de misturas e das emulsões formuladas, demonstrando que não houve alteração nas bandas específicas de cada componente.

Os espectros FTIR das emulsões e misturas também estão ilustrados na figura 30. A emulsão sem fármaco (linha verde, Emulsão BR) apresenta uma banda em 3361 cm^{-1} atribuída a grupos -OH , observada também nos demais espectros da figura. Ademais, também é possível observar bandas em 1643 cm^{-1} e 1403 cm^{-1} referentes a estiramento de carbonila (C=O) e associadas ao alongamento da ligação C=C , provenientes das vibrações da estrutura do anel aromático principal, respectivamente (Du et al., 2023; Pei et al., 2020; Ouyang et al., 2006). Além disso, a amostra Emulsão PZQ (linha *pink*), apresenta banda em 1643 cm^{-1} referente a referentes a estiramento de carbonila (C=O) presente na estrutura química do fármaco, também identificada nas demais amostras contendo praziquantel (Zanolla et al., 2018).

As análises por FTIR não indicaram alterações significativas nas bandas características dos componentes da formulação, sugerindo a ausência de interações químicas relevantes entre eles. Esse resultado, aliado aos dados de DSC e TG, indica que a estabilidade observada nas emulsões está relacionada principalmente a fenômenos físicos, como o aumento da viscosidade e a restrição da mobilidade molecular.

A formação de um sistema viscoso ou semissólido não ocorre por gelificação química induzida pelo lignossulfonato, mas sim pelo empacotamento denso das gotas da fase dispersa — fenômeno conhecido como *close packing*. Quando a fração volumétrica da fase oleosa atinge

um limite crítico, a proximidade entre as gotas emulsionadas reduz a fluidez do sistema, resultando em um aumento exponencial da viscosidade até o ponto em que o sistema adquire características de um gel físico.

Esse comportamento foi corroborado pelas análises térmicas: a curva de DSC indicou a manutenção da estrutura físico-química dos componentes, enquanto a TG mostrou estabilidade térmica compatível com um sistema fisicamente organizado. Além disso, os ensaios de retração da gota reforçam essa interpretação, demonstrando a resistência à separação de fases e o comportamento coeso da emulsão nas formulações com maior fração volumétrica de óleo

5.2.5 Determinação de quantificação do fármaco e ensaio de liberação

As emulsões contendo 5% de lignossulfonato, seja na forma purificada (LSCaP) ou ultrassonificada (LSCaU 30), foram selecionadas para dar continuidade aos ensaios de caracterização, conforme demonstrado anteriormente. Essas amostras foram preparadas seguindo a metodologia previamente descrita e submetidas ao ensaio de liberação. Além disso, o fármaco solubilizado em óleo de rícino também foi incluído no teste. O ensaio de liberação in vitro foi conduzido em pH estomacal simulado, visando compreender o comportamento das emulsões em ambientes ácidos. Os resultados obtidos estão apresentados na figura 33.

Observou-se uma diferença nos perfis de liberação do fármaco entre as formulações analisadas. A emulsão preparada com LSCaU 30 liberou aproximadamente 17% do fármaco ao longo do período analisado (240 minutos), enquanto a emulsão formulada com LSCaP e o praziquantel livre apresentaram perfis de liberação semelhantes, liberando cerca de 12% e 11%, respectivamente (figura 33.a).

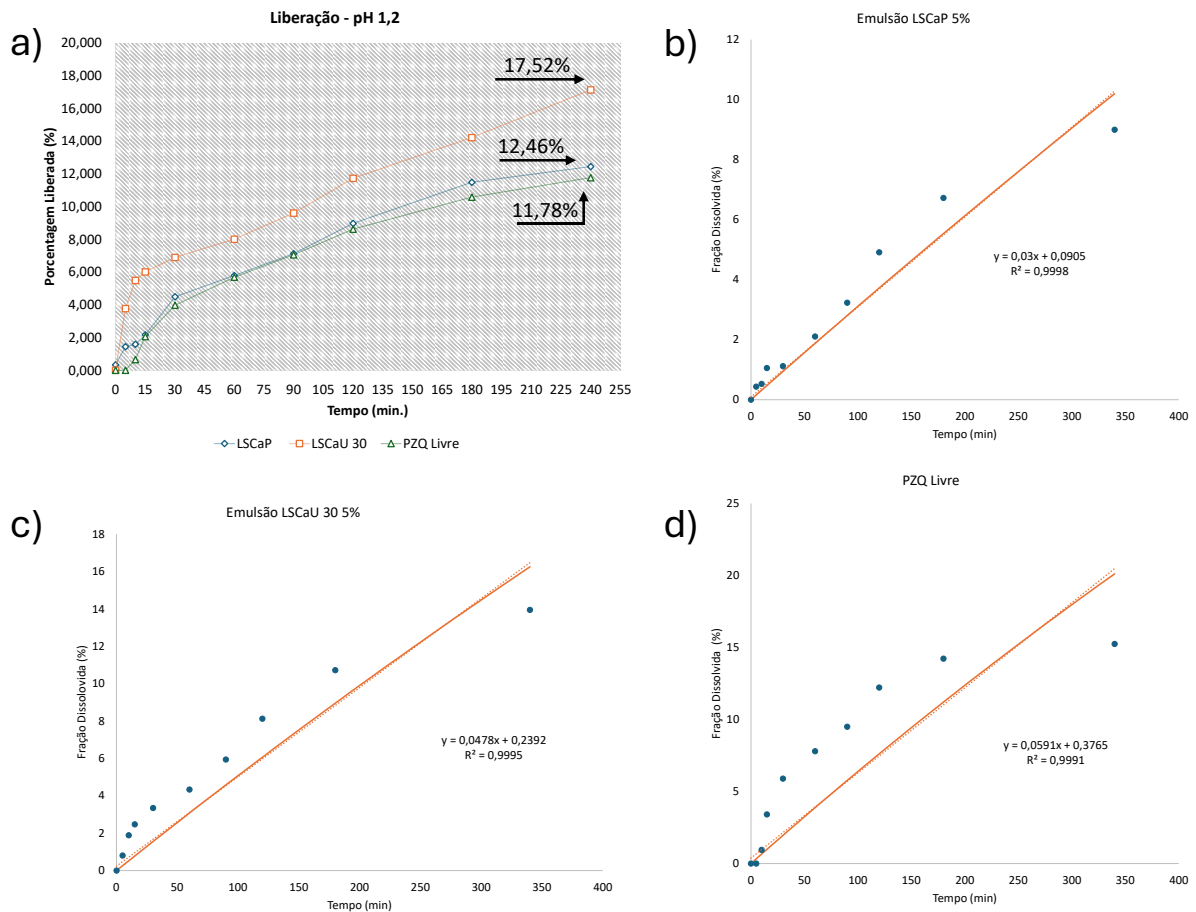
Para compreender o mecanismo de liberação do praziquantel a partir das emulsões, os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos de Primeira Ordem, Ordem Zero (Bravo, Lamas e Solómon, 2002), Peppas-Sahlin (Peppas e Sahlin, 1989), Korsmeyer-Peppas (Korsmeyer e Peppas, 1981) e Higuchi (Higuchi, 1963). Entre os modelos avaliados, o de Primeira Ordem apresentou os maiores valores de coeficiente de determinação (R^2), sendo, portanto, o que melhor descreveu a cinética de liberação observada (Figura 33.b-d; Tabelas 3, 4 e 5).

No entanto, é importante destacar que o ajuste aos modelos cinéticos deve ser interpretado com cautela. A literatura recomenda que a aplicação confiável desses modelos seja feita em perfis de liberação com frações liberadas entre 20 e 60%, o que não foi atingido neste estudo. Dessa forma, os parâmetros obtidos refletem apenas os estágios iniciais da liberação, assim moires tempos de liberação devem ser avaliados para fins de estudos mais aprofundados.

Observa-se ainda um comportamento típico de *burst release* nas emulsões, com uma liberação mais acentuada nos primeiros 15 minutos, seguida por uma cinética de liberação que se apresenta quase linear ao longo do tempo. Esse comportamento sugere uma rápida difusão inicial do fármaco mais acessível na interface óleo-água, seguido por uma liberação controlada a partir da fase oleosa residual.

Portanto, embora o modelo de Primeira Ordem tenha apresentado o melhor ajuste matemático, ele descreve apenas parcialmente o comportamento real do sistema, refletindo uma liberação governada inicialmente pela concentração do fármaco na fase oleosa e, posteriormente, por limitações difusionais e estruturais do sistema emulsionado.

Figura 33. Estudo de liberação do fármaco livre e das emulsões formuladas com LSCaP e LSCaU 30.



Legenda. (a) Perfil de liberação do praziquantel a partir das emulsões LSCaP e LSCaU 30, comparado ao fármaco livre em meio de dissolução controlado; a linha azul representa a emulsão LSCaP, a linha laranja a emulsão LSCaU 30, e a linha verde o fármaco livre. (b) Cinética detalhada de liberação do praziquantel da emulsão LSCaP ao longo do tempo, evidenciando a liberação sustentada. (c) Cinética de liberação da emulsão LSCaU 30, mostrando o perfil de liberação controlada do fármaco. (d) Cinética de liberação do praziquantel em sua forma livre, indicando rápida dissolução no meio estudado.

Tabela 3. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação da emulsão LSCaP.

Modelo Cinético	Equação	R ²	AIC	K ₁	K ₂	m	n
Ordem Zero	$Q = Q_0 - k_0t$	0,9518	0,048	-	-	-	-
Primeira Ordem	$\ln Q_t = -kt + \ln Q_0$	0,9998	0,018	0	-	-	-
Peppas-Sahlin	$M_t/M_\infty = k_1t^m + k_2t^{2m}$	0,9931	0,013	0,001	-	0	-
Korsmeyer-Peppas	$M_t/M_\infty = kt^n$	0,9918	0,01	-	-	-	0,001
Higuchi	$M_t/M_\infty = kt^{0,5}$	0,948	0,022	-	-	-	-

Tabela 4. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação da emulsão LSCaU 30

Modelo Cinético	Equação	R ²	AIC	K ₁	K ₂	m	n
Ordem Zero	$Q = Q_0 - k_0t$	0,9325	0,036	-	-	-	-
Primeira Ordem	$\ln Q_t = -kt + \ln Q_0$	0,9995	0,034	0	-	-	-
Peppas-Sahlin	$M_t/M_\infty = k_1t^m + k_2t^{2m}$	0,9776	0,016	0	-	0	-
Korsmeyer-Peppas	$M_t/M_\infty = kt^n$	0,9765	0,013	-	-	-	0,001
Higuchi	$M_t/M_\infty = kt^{0,5}$	0,948	0,018	-	-	-	-

Tabela 5. Modelos de cinética de liberação para avaliação da liberação do praziquantel livre.

Modelo Cinético	Equação	R ²	AIC	K ₁	K ₂	m	n
Ordem Zero	$Q = Q_0 - k_0t$	0,8644	0,05	-	-	-	-
Primeira Ordem	$\ln Q_t = -kt + \ln Q_0$	0,9991	0,049	0	-	-	-
Peppas-Sahlin	$M_t/M_\infty = k_1t^m + k_2t^{2m}$	0,9699	0,016	0,001	-	0	-
Korsmeyer-Peppas	$M_t/M_\infty = kt^n$	0,9984	0,033	-	-	-	1
Higuchi	$M_t/M_\infty = kt^{0,5}$	0,948	0,017	-	-	-	-

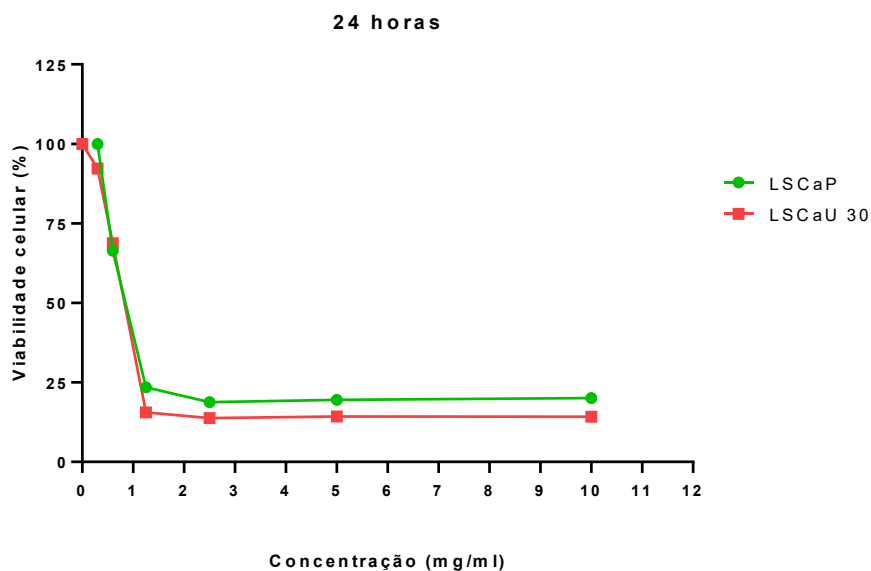
5.3 Atividade biológica

5.3.1 Ensaio de viabilidade celular por MTT

A avaliação da citotoxicidade do lignossulfonato em células CACO-2 foi conduzida por meio de ensaios de viabilidade celular, e os resultados após 24 horas de tratamento são apresentados na figura 34. O estudo comparou a resposta celular a duas formas de lignossulfonato: lignossulfonato purificado (LSCaP) e lignossulfonato ultrassonificado por 30 segundos (LSCaU 30).

A avaliação da citotoxicidade do lignossulfonato purificado (LSCaP) e ultrassonificado (LSCaU 30) em células Caco-2 revelou efeitos significativamente dose-dependentes, especialmente em concentrações elevadas. Os dados obtidos demonstraram que, em concentrações de 10.000, 5.000, 2.500 e 1.250 mg/mL, ambos os tipos de lignossulfonato reduziram drasticamente a viabilidade celular para menos de 25%, refletindo uma elevada toxicidade. Tais achados estão em conformidade com a literatura que aponta a possibilidade de compostos lignocelulósicos modificados interferirem com processos celulares, sobretudo por conta da presença de grupos funcionais reativos como sulfonatos e fenóis (CHAUDHARY; SINHA, 2023).

Figura 34. Estudo da viabilidade celular em Caco-2 de LSCaP e LSCaU 30.



Legenda. Tratamento das células Caco-2 com as emulsões LSCaP e LSCaU 30. Os valores apresentados foram normalizados para calcular o percentual de viabilidade celular, utilizando o software GraphPad Prism® versão 6.1. Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significativas, com $p < 0,05$.

O lignossulfonato é um polímero aniônico derivado da lignina sulfonada, apresentando características como alta solubilidade em água, carga negativa e potencial para interações hidrofóbicas e eletrostáticas com membranas celulares e proteínas intracelulares. Essas propriedades estruturais são particularmente importantes no contexto de toxicidade, já que tais interações podem comprometer a integridade da membrana plasmática ou induzir processos oxidativos intracelulares (Chaudhary, et. al., 2023). Além disso, a possível geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) em contato com biomoléculas pode levar à apoptose ou necrose celular, embora esse mecanismo não tenha sido diretamente avaliado neste estudo.

O processo de ultrassonificação utilizado na obtenção do LSCaU 30 visava a redução do tamanho das partículas e aumento da área superficial específica, aspectos frequentemente associados ao aumento da reatividade de materiais particulados. Estudos prévios demonstraram que nanopartículas derivadas de lignossulfonato, especialmente quando submetidas à sonicação, apresentam maior capacidade de adsorção e interação com sistemas biológicos (KIM et al., 2013). No entanto, os valores de IC_{50} obtidos para LSCaP (0,67 mg/mL) e LSCaU 30 (0,62 mg/mL) não diferiram significativamente, sugerindo que, embora a sonicação modifique a estrutura do polímero, essas mudanças não se refletiram em aumento estatisticamente relevante da toxicidade. Esse dado é particularmente interessante pois indica que a redução do tamanho de partícula, por si só, não é suficiente para alterar drasticamente o perfil tóxico do lignossulfonato nesse modelo celular.

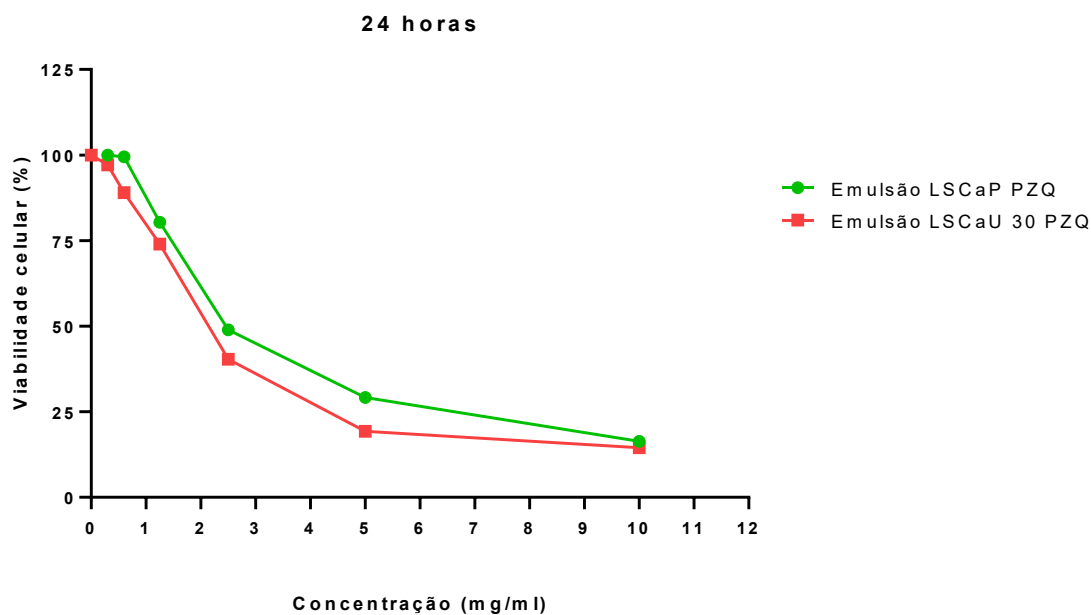
As formulações emulsificadas (LSCaP PZQ e LSCaU 30 PZQ) apresentaram perfil citotóxico distinto, com viabilidades celulares mais elevadas nas mesmas concentrações de lignossulfonato (figura 35). Em concentrações de 1.250 mg/mL ou menores, ambas as emulsões resultaram em viabilidades superiores a 75%, sugerindo uma redução importante da toxicidade. A análise das curvas dose-resposta revelou valores de IC_{50} de 2,813 mg/mL (LSCaP PZQ) e 2,167 mg/mL (LSCaU 30 PZQ), indicando toxicidade cerca de três vezes menor do que os lignossulfonatos isolados. Essa mitigação dos efeitos tóxicos pode estar relacionada à natureza da estrutura da emulsão múltipla (A/O/A), que encapsula o lignossulfonato na fase interna, diminuindo seu contato direto com a superfície celular.

Jiménez et al. (2023) observaram fenômeno semelhante ao avaliarem hidrogéis modificados com lignina, em que a encapsulação resultou em menor toxicidade para organismos expostos. Tal encapsulamento físico pode atuar como uma barreira difusional, modulando a liberação dos componentes ativos e evitando interações diretas entre o polímero e os alvos celulares. Além disso, o sistema emulsificado pode promover a redistribuição da energia de superfície dos componentes poliméricos, reduzindo sua reatividade imediata — uma

estratégia bem documentada na literatura de sistemas carreadores de fármacos (Chaudhary, et. al., 2023).

Outro aspecto relevante foi a observação do efeito Pickering na emulsão contendo lignossulfonato ultrassonificado (LSCaU 30 PZQ). Essa característica decorre da presença de partículas sólidas na interface gota/gota que conferem estabilidade física à emulsão sem a necessidade de tensoativos clássicos. Segundo Kim et al. (2013), partículas ultrassonificadas podem estabilizar emulsões por meio de ancoragem físico-química na interface, criando uma camada sólida que impede a coalescência. Contudo, essa maior estabilidade pode vir acompanhada de um leve aumento na toxicidade, possivelmente por conta da maior área superficial específica dos estabilizantes particulados, o que foi refletido na diferença não significativa, mas ligeiramente inferior, do IC_{50} da emulsão ultrassonificada.

Figura 35. Estudo da viabilidade celular em Caco-2 de Emulsão LSCaP PZQ e Emulsão LSCaU 30 PZQ.



Legenda. Tratamento das células Caco-2 com as emulsões LSCaP e LSCaU 30. Os valores foram normalizados para calcular o percentual de viabilidade celular, com análise estatística realizada no software GraphPad Prism® versão 6.1. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Importante notar que, mesmo com a diferença entre os IC_{50} s das duas emulsões, a sobreposição das barras de erro e a ausência de significância estatística indicam que ambas apresentam perfis tóxicos semelhantes e aceitáveis. Esses resultados reforçam o potencial das emulsões como sistemas de liberação controlada de fármacos, especialmente considerando que

a redução da toxicidade em comparação ao lignossulfonato isolado representa um avanço importante para a aplicação tópica ou oral dessas formulações.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos ao longo deste estudo demonstraram que é possível desenvolver emulsões estáveis por até 120 dias utilizando lignossulfonato purificado como agente estabilizante. A estabilidade observada parece estar fortemente relacionada à viscosidade do sistema, que aumenta significativamente com a elevação da fração volumétrica da fase oleosa, favorecendo a formação de uma rede física densa (*close packing*). Esse empacotamento reduz a mobilidade das gotas, conferindo ao sistema características de gel físico sem a necessidade de gelificantes adicionais.

As análises térmicas por DSC e TG reforçam essa interpretação, ao indicarem a manutenção da integridade físico-química dos componentes individuais após a emulsificação, sem evidências de interações químicas indesejadas. A ausência de picos adicionais ou deslocamentos significativos nos termogramas confirma que o processo de incorporação do praziquantel (PZQ) à emulsão não compromete sua estabilidade térmica. Paralelamente, a análise espectroscópica por FTIR não revelou alterações nas bandas funcionais dos constituintes, corroborando a ideia de que o sistema é estabilizado por interações físicas, especialmente a formação de camadas interfaciais viscoelásticas promovidas pelo lignossulfonato.

Além disso, observou-se a formação de emulsões múltiplas do tipo água/óleo/água (a/o/a), sugerindo a possível atuação de um mecanismo de estabilização do tipo Pickering, promovido pela auto-organização do lignossulfonato na interface. A liberação do PZQ nas emulsões indicou um perfil lento e controlado, com indícios de aumento da solubilidade do fármaco em meios ácidos, o que pode representar uma vantagem farmacotécnica relevante para formulações orais ou tópicas.

Os testes preliminares de citotoxicidade demonstraram que as emulsões, nas concentrações analisadas, apresentam um perfil de segurança promissor, reforçando seu potencial para aplicações biomédicas. No entanto, apesar dos resultados encorajadores, é importante destacar que mais estudos são necessários para aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos, avaliar a eficácia terapêutica *in vivo* e garantir a segurança a longo prazo do sistema formulado.

Dessa forma, conclui-se que a abordagem proposta neste trabalho representa uma estratégia promissora para a veiculação de fármacos hidrofóbicos em sistemas emulsionados, especialmente aqueles com baixa solubilidade em água, como o praziquantel. Ainda assim, a continuidade das investigações é essencial para validar e ampliar a aplicabilidade do sistema desenvolvido em contextos clínicos ou industriais.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, Nour S. et al. Sodium lignosulfonate: A renewable corrosion inhibitor extracted from lignocellulosic waste. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 6, p. 7531-7541, 2024.
- ALBERT, Claire et al. Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 309, p. 302-332, 2019.
- ARAGON, Anthony D. et al. Towards an understanding of the mechanism of action of praziquantel. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 164, n. 1, p. 57-65, 2009.
- ARO, Thomas; FATEHI, Pedram. Production and application of lignosulfonates and sulfonated lignin. **ChemSusChem**, v. 10, n. 9, p. 1861-1877, 2017.
- ASERIN, Abraham (Ed.). **Multiple emulsion: technology and applications**. John Wiley & Sons, 2007.
- ASKVIK, Kjell Magne et al. Properties of the lignosulfonate–surfactant complex phase. **Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, v. 182, n. 1-3, p. 175-189, 2001.
- ASSUMPÇÃO, Noêmi RL; LONA, Liliane MF. Effect of lignin without surface treatment in in situ methyl methacrylate miniemulsion polymerization. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 10, n. 10, p. 3219-3226, 2022.
- AVEYARD, Robert; BINKS, Bernard P.; CLINT, John H. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. **Advances in colloid and interface science**, v. 100, p. 503-546, 2003.
- BABIJ, Nicholas R. et al. NMR chemical shifts of trace impurities: Industrially preferred solvents used in process and green chemistry. **Organic process research & development**, v. 20, n. 3, p. 661-667, 2016.
- BABU BORUGADDA, Venu; GOUD, Vaibhav V. Comparative studies of thermal, oxidative and low temperature properties of waste cooking oil and castor oil. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 5, n. 6, 2013.
- BARSOUM, Rashad S.; ESMAT, Gamal; EL-BAZ, Tamer. Human schistosomiasis: clinical perspective. **Journal of advanced research**, v. 4, n. 5, p. 433-444, 2013.
- BENET, Leslie Z.; BROCCATELLI, Fabio; OPREA, Tudor I. BDDCS applied to over 900 drugs. **The AAPS journal**, v. 13, p. 519-547, 2011.
- BERGQUIST, Robert; ELMORSHEDY, Hala. Artemether and praziquantel: origin, mode of action, impact, and suggested application for effective control of human schistosomiasis. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 3, n. 4, p. 125, 2018.
- BERRY, Joseph D. et al. Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry. **Journal of colloid and interface science**, v. 454, p. 226-237, 2015.
- BINKS, Bernard P.; PHILIP, John; RODRIGUES, Jhonny A. Inversion of silica-stabilized emulsions induced by particle concentration. **Langmuir**, v. 21, n. 8, p. 3296-3302, 2005.

BINKS, Bernard Paul; ISA, Lucio; TYOWUA, Andrew Terhemen. Direct measurement of contact angles of silica particles in relation to double inversion of pickering emulsions. **Langmuir**, v. 29, n. 16, p. 4923-4927, 2013.

BRAR, Satinder K.; VERMA, M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 4-17, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Esquistossomose. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/e/esquistossomose>. Acesso em: 5 jan. 2025.

BRAVO, S. A.; LAMAS, M. C.; SALOMÓN, C. J. **In-vitro studies of diclofenac sodium controlled-release from biopolymeric hydrophilic matrices**. *J Pharm Pharm Sci*, v. 5, n. 3, p. 213-219, 2002.

BREILLY, Damien et al. Origin and industrial applications of lignosulfonates with a focus on their use as superplasticizers in concrete. **Construction and Building Materials**, v. 301, p. 124065, 2021.

BUTT, Hans-Jürgen et al. Contact angle hysteresis. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 59, p. 101574, 2022.

CARDIAL, Mayrla R. Lima et al. Pickering emulsions stabilized with cashew gum nanoparticles as indomethacin carrier. **International journal of biological macromolecules**, v. 132, p. 534-540, 2019.

CHAI, Jong-Yil. Praziquantel treatment in trematode and cestode infections: an update. **Infection & chemotherapy**, v. 45, n. 1, p. 32, 2013.

CHEN, Lijuan et al. Food-grade Pickering emulsions: Preparation, stabilization and applications. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3202, 2020.

CHEN, Xiaojun et al. Elevated serum antibody against *Schistosoma japonicum* HSP60 as a promising biomarker for liver pathology in schistosomiasis. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 7765, 2017.

CHEVALIER, Yves; BOLZINGER, Marie-Alexandrine. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 439, p. 23-34, 2013.

CHIAPPINI, Ciro et al. Biodegradable nanoneedles for localized delivery of nanoparticles in vivo: exploring the biointerface. **ACS nano**, v. 9, n. 5, p. 5500-5509, 2015.

CHONG, DaoTong et al. Advances in fabricating double-emulsion droplets and their biomedical applications. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 19, p. 1071-1090, 2015.

CIOLI, Donato; PICA-MATTOCCIA, Livia. Praziquantel. **Parasitology research**, v. 90, p. S3-S9, 2003.

COLLEY, Daniel G. et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.

COLLINS-GOLD, L. C.; LYONS, R. T.; BARTHOLOW, L. C. Parenteral emulsions for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 5, n. 3, p. 189-208, 1990.

COSGROVE, Terence (Ed.). **Colloid science: principles, methods and applications**. John Wiley & Sons, 2010.

CRELLEN, Thomas et al. Reduced efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is associated with multiple rounds of mass drug administration. **Clinical infectious diseases**, v. 63, n. 9, p. 1151-1159, 2016.

D'ABBRUNZO, Ilenia; PROCIDA, Giuseppe; PERISSUTTI, Beatrice. Praziquantel fifty years on: a comprehensive overview of its solid state. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 1, p. 27, 2023.

DA SILVA, Vinícius Barros Ribeiro et al. Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 25, n. 13, p. 3259-3277, 2017.

DAI, Hongjie et al. Recent advances on cellulose nanocrystals for Pickering emulsions: Development and challenge. **Trends in Food Science & Technology**, v. 102, p. 16-29, 2020.

DAI, Lin et al. Lignin-based nanoparticles stabilized pickering emulsion for stability improvement and thermal-controlled release of trans-resveratrol. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7, n. 15, p. 13497-13504, 2019.

DANIOTTI, Sara; RE, Ilaria. Marine biotechnology: Challenges and development market trends for the enhancement of biotic resources in industrial pharmaceutical and food applications. A statistical analysis of scientific literature and business models. *Marine drugs*, v. 19, n. 2, p. 61, 2021.

DE ALMEIDA, Adelia Emilia et al. Thermal characterization of solid lipid nanoparticles containing praziquantel. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 333-339, 2012.

DE CARVALHO-GUIMARÃES, Fernanda Brito et al. A review of Pickering emulsions: perspectives and applications. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 11, p. 1413, 2022.

DE OLIVEIRA, Vinícius José et al. Analysis of schistosomiasis cases and deaths in Brazil: epidemiologic patterns and spatio-temporal distribution, 2010-2022. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 47, n. 2, p. 39-52, 2023.

DENG, Yonghong et al. Adsorption and desorption behaviors of lignosulfonate during the self-assembly of multilayers. **BioResources**, 2010.

DENG, Yonghong et al. π - π stacking of the aromatic groups in lignosulfonates. **BioResources**, v. 7, n. 1, 2012.

DHAVAL, Mori et al. Lipid-based emulsion drug delivery systems—A comprehensive review. **Drug delivery and translational research**, p. 1-24, 2022.

DING, Shukai et al. Double emulsions prepared by two-step emulsification: History, state-of-the-art and perspective. **Journal of controlled release**, v. 295, p. 31-49, 2019.

DIZHBITE, Tatiana et al. Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. **Bioresource technology**, v. 95, n. 3, p. 309-317, 2004.

- DO AMARAL, Lilian Fernanda Martins et al. Oil-in-oil Pickering emulsions stabilized by shigaite-like layered double hydroxide particles. **Applied Clay Science**, v. 238, p. 106947, 2023.
- DONG, Hui et al. Pickering emulsions stabilized by spherical cellulose nanocrystals. **Carbohydrate polymers**, v. 265, p. 118101, 2021.
- DU, Boyu et al. Designed synthesis of multifunctional lignin-based adsorbent for efficient heavy metal ions removal and electromagnetic wave absorption. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 234, p. 123668, 2023.
- EFSA PANEL ON ADDITIVES AND PRODUCTS OR SUBSTANCES USED IN ANIMAL FEED (FEEDAP) et al. Safety of a feed additive consisting of lignosulphonate for all animal species (Borregaard AS). **EFSA Journal**, v. 21, n. 4, p. e07956, 2023.
- ELBAZ, Tamer; ESMAT, Gamal. Hepatic and intestinal schistosomiasis. **Journal of advanced research**, v. 4, n. 5, p. 445-452, 2013.
- EL'PINER, I. E. Action of ultrasonic waves on biomacromolecules. **Ultrasound: Physical, Chemical and Biological Effects**, 1964.
- ENSING, Bernd et al. On the origin of the extremely different solubilities of polyethers in water. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 2893, 2019.
- ERAL, Husseyin B.; 'T MANNETJE, D. J. C. M.; OH, Jung Min. Contact angle hysteresis: a review of fundamentals and applications. **Colloid and polymer science**, v. 291, p. 247-260, 2013.
- FAN, Honglei et al. Fabrication of superamphiphilic carbon using lignosulfonate for enhancing selective hydrogenation reactions in pickering emulsions. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 21, p. 25234-25240, 2021.
- FLORENCE, A. T.; WHITEHILL, D. Some features of breakdown in water-in-oil-in-water multiple emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 79, n. 1, p. 243-256, 1981.
- GANÁN-CALVO, Alfonso M. et al. Focusing capillary jets close to the continuum limit. **Nature Physics**, v. 3, n. 10, p. 737-742, 2007.
- GAO, Fei et al. Lignosulfonate improves photostability and bioactivity of abscisic acid under ultraviolet radiation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 26, p. 6585-6593, 2017.
- GE, Yuanyuan; LI, Dingwei; LI, Zhili. Effects of lignosulfonate structure on the surface activity and wettability to a hydrophobic powder. **BioResources**, v. 9, n. 4, p. 7119-7127, 2014.
- GILCA, Iulian Andrei; POPA, Valentin I.; CRESTINI, Claudia. Obtaining lignin nanoparticles by sonication. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 23, p. 369-375, 2015.
- GOMES, Ana Clarissa Luna et al. Prevalência e carga parasitária da esquistossomose mansônica antes e depois do tratamento coletivo em Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 243-250, 2016.

- GOUBRAN, R.; GARTI, N. Stability of hater in oil emulsions using high molecular weight emulsifiers. **Journal of dispersion science and technology**, v. 9, n. 2, p. 131-148, 1988.
- GRYSEELS, Bruno et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.
- GUZMÁN, Eduardo; ORTEGA, Francisco; RUBIO, Ramón G. Pickering Emulsions: A novel tool for cosmetic formulators. **Cosmetics**, v. 9, n. 4, p. 68, 2022.
- HAN, Jinbang et al. Bio-based waterborne polyurethanes from castor oil, sorbitan monooleate and sodium lignosulfonate with ultraviolet resistance, photothermal effect, corrosion protection and degradation properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 138471, 2024.
- HAO, Jingyi et al. Facile separation of aromatic pollutant/water by lignosulfonate based superparamagnetic composites. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 616, p. 126312, 2021.
- HAO, Yajuan et al. A pH-responsive TiO₂-based Pickering emulsion system for in situ catalyst recycling. **Chinese Chemical Letters**, v. 29, n. 6, p. 778-782, 2018.
- HAZT, B. Effect of pH and beta-lactoglobulin particle morphology on the stabilization of amylopectin and xyloglucan emulsions. 91 f. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, Curitiba, 2022.
- HAZT, Bianca et al. Effect of pH and protein particle shape on the stability of amylopectin–xyloglucan water-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 104, p. 105769, 2020.
- HAZT, Bianca et al. Unconventional and conventional Pickering emulsions: Perspectives and challenges in skin applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 636, p. 122817, 2023.
- HEMMILÄ, Venla et al. Characterization of wood-based industrial biorefinery lignosulfonates and supercritical water hydrolysis lignin. **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, p. 5835-5845, 2020.
- HIGUCHI, T. **Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices.** Journal of pharmaceutical sciences, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963.
- HILL, P. A. **Bone remodelling.** British journal of orthodontics, v. 25, n. 2, p. 101-107, 1998.
- HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H. **Dependence of reaction velocity upon surface and agitation.** Industrial & Engineering Chemistry, v. 23, n. 8, p. 923-931, 1931.
- HOLMBERG, Krister. Natural surfactants. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 6, n. 2, p. 148-159, 2001.
- INOBAYA, Marianne T. et al. Prevention and control of schistosomiasis: a current perspective. **Research and reports in tropical medicine**, v. 2014, n. 5, p. 65, 2014.

- IQBAL, Muhammad et al. Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 173-190, 2015.
- JAHROMI, Leila Pourtalebi et al. A comparison of models for the analysis of the kinetics of drug release from PLGA-based nanoparticles. **Heliyon**, v. 6, n. 2, 2020.
- JEYARAJ, Muniyandi et al. A comprehensive review on the synthesis, characterization, and biomedical application of platinum nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 9, n. 12, p. 1719, 2019.
- KALE, Santosh Nemichand; DEORE, Sharada Laxman. Emulsion micro emulsion and nano emulsion: a review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 8, n. 1, p. 39, 2017.
- KARAK, Niranjana; RANA, Sravendra; CHO, Jae Whan. Synthesis and characterization of castor-oil-modified hyperbranched polyurethanes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 2, p. 736-743, 2009.
- KASINATHAN, Ravi S. et al. Inhibition or knockdown of ABC transporters enhances susceptibility of adult and juvenile schistosomes to Praziquantel. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 10, p. e3265, 2014.
- KATAHIRA, Rui; ELDER, Thomas J.; BECKHAM, Gregg T. A brief introduction to lignin structure. 2018.
- KHAJEH, Aghileh et al. A state-of-the-art review on the application of lignosulfonate as a green alternative in soil stabilization. **Science of The Total Environment**, p. 173500, 2024.
- KHASKHELI, Abid Ali et al. Monitoring the *Rhizopus oryzae* lipase catalyzed hydrolysis of castor oil by ATR-FTIR spectroscopy. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 113, p. 56-61, 2015.
- KIM, Ha Seong; MASON, Thomas G. Advances and challenges in the rheology of concentrated emulsions and nanoemulsions. *Advances in colloid and interface science*, v. 247, p. 397-412, 2017.
- KOMISARZ, Karolina; MAJKA, Tomasz M.; PIELICHOWSKI, Krzysztof. Chemical transformation of lignosulfonates to lignosulfonamides with improved thermal characteristics. **Fibers**, v. 10, n. 2, p. 20, 2022.
- KORSMEYER, R. W.; PEPPAS, N. A. Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water-soluble drugs. **Journal of Membrane Science**, v. 9, n. 3, p. 211-227, 1981.
- KUMAR, Ankit et al. New insights into water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsions: Properties, fabrication, instability mechanism, and food applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 128, p. 22-37, 2022.
- LE, Thu Tran et al. Determination of heat-induced effects on the particle size distribution of casein micelles by dynamic light scattering and nanoparticle tracking analysis. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 12, p. 1090-1096, 2008.
- LEA-BANKS, H.; O'REILLY, M. A.; HYNYNEN, K. Ultrasound-responsive droplets for therapy: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 293, p. 144-154, 2019.

- LEGER, Elsa; WEBSTER, Joanne P. Hybridizations within the genus *Schistosoma*: implications for evolution, epidemiology and control. **Parasitology**, v. 144, n. 1, p. 65-80, 2017.
- LI, Hui et al. Surface modification of cellulose fibers with layer-by-layer self-assembly of lignosulfonate and polyelectrolyte: effects on fibers wetting properties and paper strength. **Cellulose**, v. 19, p. 533-546, 2012.
- LIM, Hui-Peng et al. Pickering emulsion hydrogel as a promising food delivery system: Synergistic effects of chitosan Pickering emulsifier and alginate matrix on hydrogel stability and emulsion delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 103, p. 105659, 2020.
- LIU, Chen et al. Effect of sodium lignosulfonate on bonding strength and chemical structure of a lignosulfonate/chitosan-glutaraldehyde medium-density fiberboard adhesive. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 4, p. 1176-1184, 2021.
- LOW, Liang Ee et al. Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion. **Advances in colloid and interface science**, v. 277, p. 102117, 2020.
- LUDWIG, Charles Heberle; SARKANEN, K. V. **Lignins: occurrence, formation, structure and reactions**. 1971.
- LUGOVITSKAYA, T. N.; ROGOZHNIKOV, D. A. Construction of lignosulphonate-containing polymersomes and prospects for their use for elemental sulfur encapsulation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 400, p. 124612, 2024.
- LUO, Hui et al. Structure and properties of layer-by-layer self-assembled chitosan/lignosulfonate multilayer film. **Materials Science and Engineering: C**, v. 32, n. 7, p. 2001-2006, 2012.
- MACHADO, Vitor VS et al. Water-in-Oil Pickering Emulsions Stabilized by Divalent Metal Phenylphosphonate Particles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 7, p. 918-926, 2023.
- MARQUES, Carine Santana Ferreira et al. Solid dispersion of praziquantel enhanced solubility and improve the efficacy of the schistosomiasis treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 45, p. 124-134, 2018.
- MASSARA, Cristiano Lara et al. Caracterização de materiais educativos impressos sobre esquistossomose, utilizados para educação em saúde em áreas endêmicas no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 575-584, 2016.
- MATSUSHITA, Yasuyuki; YASUDA, Seiichi. Preparation and evaluation of lignosulfonates as a dispersant for gypsum paste from acid hydrolysis lignin. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 4, p. 465-470, 2005.
- MEGIATTO JR, Jackson D.; CERRUTTI, Bianca M.; FROLLINI, Elisabete. Sodium lignosulfonate as a renewable stabilizing agent for aqueous alumina suspensions. **International journal of biological macromolecules**, v. 82, p. 927-932, 2016.

MENG, Weihao et al. Spray-drying and rehydration on β -carotene encapsulated Pickering emulsion with chitosan and seaweed polyphenol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 268, p. 131654, 2024.

MENGARDA, Ana C. et al. Praziquantel Nanoparticle Formulation for the Treatment of Schistosomiasis. **ACS Applied Nano Materials**, 2025.

MING, Yali; XIA, Yufei; MA, Guanghui. Aggregating particles on the o/w interface: Tuning Pickering emulsion for the enhanced drug delivery systems. **Aggregate**, v. 3, n. 2, p. e162, 2022.

MORADI, Samira; SHAYESTEH, Keivan; BEHBUDI, Gity. Preparation and characterization of biodegradable lignin-sulfonate nanoparticles using the microemulsion method to enhance the acetylation efficiency of lignin-sulfonate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 632-641, 2020.

MUKHERJEE, Indrajyoti; MOULIK, Satya P.; RAKSHIT, Animesh K. Tensiometric determination of Gibbs surface excess and micelle point: A critical revisit. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 394, p. 329-336, 2013.

MUSL, Oliver et al. Mapping of the hydrophobic composition of lignosulfonates. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 9, n. 49, p. 16786-16795, 2021.

MYRVOLD, Bernt O. Differences in solubility parameters and susceptibility to salting-out between softwood and hardwood lignosulfonates. **Holzforschung**, v. 70, n. 11, p. 1015-1021, 2016.

NAUDE, Leané. **Characterization of lignosulphonate and its changes during purification**. 2023. Tese de Doutorado. North-West University (South Africa).

NIU, Xuehua et al. The role of praziquantel in the prevention and treatment of fibrosis associated with schistosomiasis: a review. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2022, n. 1, p. 1413711, 2022.

NOGUEIRA, Ranielly Araujo et al. Praziquantel: An update on the mechanism of its action against schistosomiasis and new therapeutic perspectives. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 252, p. 111531, 2022.

NÚÑEZ-FLORES, R. et al. Role of lignosulphonate in properties of fish gelatin films. **Food hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 60-71, 2012.

OGAWA, Yasuaki et al. Controlled-release of leuprolide acetate from polylactic acid or copoly (lactic/glycolic) acid microcapsules: influence of molecular weight and copolymer ratio of polymer. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 36, n. 4, p. 1502-1507, 1988.

OLLIARO, Piero; DELGADO-ROMERO, Petra; KEISER, Jennifer. The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 4, p. 863-870, 2014.

ORTIZ, Danae Gonzalez et al. Current trends in Pickering emulsions: Particle morphology and applications. **Engineering**, v. 6, n. 4, p. 468-482, 2020.

- OUYANG, Xinping et al. Corrosion and scale inhibition properties of sodium lignosulfonate and its potential application in recirculating cooling water system. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 45, n. 16, p. 5716-5721, 2006.
- PANIGRAHI, Dhananjay et al. Quality by design prospects of pharmaceuticals application of double emulsion method for PLGA loaded nanoparticles. **SN applied sciences**, v. 3, p. 1-21, 2021.
- PEI, Wenhui et al. Using lignin as the precursor to synthesize Fe₃O₄@ lignin composite for preparing electromagnetic wave absorbing lignin-phenol-formaldehyde adhesive. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112638, 2020.
- PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. **A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation.** International journal of pharmaceutics, v. 57, n. 2, p. 169-172, 1989.
- PERAZZO, Antonio et al. Emulsions in porous media: From single droplet behavior to applications for oil recovery. **Advances in colloid and interface science**, v. 256, p. 305-325, 2018.
- PHAM, Janette V. et al. A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics. *Frontiers in microbiology*, v. 10, p. 1404, 2019.
- PICCININO, Davide et al. Nano-structured lignin as green antioxidant and UV shielding ingredient for sunscreen applications. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 274, 2021.
- PIOMBINO, Claudio et al. Lignosulfonate microcapsules for delivery and controlled release of thymol and derivatives. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 866, 2020.
- PONTRELLI, G. et al. Modeling drug delivery from multiple emulsions. **Physical Review E**, v. 102, n. 2, p. 023114, 2020.
- QIAN, Yong et al. Aggregation of sodium lignosulfonate above a critical temperature. **Holzforschung**, v. 68, n. 6, p. 641-647, 2014.
- QIU, Xueqing et al. Aggregation behavior of sodium lignosulfonate in water solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 48, p. 15857-15861, 2010.
- RAMSDEN, W. Separation of solids in the surface-layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—Preliminary account. **Proceedings of the royal Society of London**, v. 72, n. 477-486, p. 156-164, 1904.
- REN, Ying et al. Molecular dynamics simulations of surfactant adsorption at oil/water interface under shear flow. **Particuology**, v. 44, p. 36-43, 2019.
- REZANOWICH, A.; YEAN, W. Q.; GORING, D. A. I. High resolution electron microscopy of sodium lignin sulfonate. **Journal of applied polymer science**, v. 8, n. 4, p. 1801-1812, 1964.
- RICHTER, A. R. et al. Pickering emulsion stabilized by cashew gum-poly-l-lactide copolymer nanoparticles: Synthesis, characterization and amphotericin B encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 164, p. 201-209, 2018.

- RINALDI, Gabriel et al. Viability of developmental stages of *Schistosoma mansoni* quantified with xCELLigence worm real-time motility assay (xWORM). **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 3, p. 141-148, 2015.
- RODRIGUES, J. M. E. et al. DSC monitoring of the cure kinetics of a castor oil-based polyurethane. **Thermochimica Acta**, v. 427, n. 1-2, p. 31-36, 2005.
- RODRIGUEZ, Ana Maria Bago; BINKS, Bernard P. Catalysis in Pickering emulsions. **Soft Matter**, v. 16, n. 45, p. 10221-10243, 2020.
- ROSEN, Milton J.; KUNJAPPU, Joy T. **Surfactants and interfacial phenomena**. John Wiley & Sons, 2012.
- RUWOLDT, Jost. A critical review of the physicochemical properties of lignosulfonates: chemical structure and behavior in aqueous solution, at surfaces and interfaces. **Surfaces**, v. 3, n. 4, p. 622-648, 2020.
- RUWOLDT, Jost. Emulsion Stabilization with Lignosulfonates. In: **Lignin-Chemistry, Structure, and Application**. IntechOpen, 2022.
- RUWOLDT, Jost; PLANQUE, Juliette; ØYE, Gisle. Lignosulfonate salt tolerance and the effect on emulsion stability. **ACS omega**, v. 5, n. 25, p. 15007-15015, 2020.
- SALAZAR-ROJAS, Duverniz; MAGGIO, Rubén M.; KAUFMAN, Teodoro S. Preparation and characterization of a new solid form of praziquantel, an essential anthelmintic drug. Praziquantel racemic monohydrate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 146, p. 105267, 2020.
- SAVEYN, Hans et al. Accurate particle size distribution determination by nanoparticle tracking analysis based on 2-D Brownian dynamics simulation. **Journal of colloid and interface science**, v. 352, n. 2, p. 593-600, 2010.
- SCHUG, Kevin A.; LINDNER, Wolfgang. Noncovalent binding between guanidinium and anionic groups: focus on biological-and synthetic-based arginine/guanidinium interactions with phosph [on] ate and sulf [on] ate residues. **Chemical reviews**, v. 105, n. 1, p. 67-114, 2005.
- SERGI, Danilo; SCOCCHI, Giulio; ORTONA, Alberto. Molecular dynamics simulations of the contact angle between water droplets and graphite surfaces. **Fluid phase equilibria**, v. 332, p. 173-177, 2012.
- SETIATI, R. et al. Challenge sodium lignosulfonate surfactants synthesized from bagasse as an injection fluid based on hydrophil liphophilic balance. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2018. p. 012083.
- SHARKAWY, Asma; BARREIRO, Maria Filomena; RODRIGUES, Alírio E. Chitosan-based Pickering emulsions and their applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, p. 116885, 2020.
- SHARKAWY, Asma; BARREIRO, Maria Filomena; RODRIGUES, Alirio Egidio. Preparation of chitosan/gum Arabic nanoparticles and their use as novel stabilizers in oil/water Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 224, p. 115190, 2019.

SHEN, Qing; ZHANG, Tao; ZHU, Mei-Fang. A comparison of the surface properties of lignin and sulfonated lignins by FTIR spectroscopy and wicking technique. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 320, n. 1-3, p. 57-60, 2008.

SHETH, Tanvi et al. Multiple nanoemulsions. **Nature Reviews Materials**, v. 5, n. 3, p. 214-228, 2020.

SHI, Aimin et al. Pickering and high internal phase Pickering emulsions stabilized by protein-based particles: A review of synthesis, application and prospective. **Food Hydrocolloids**, v. 109, p. 106117, 2020.

SIEBEN, Priscila Gritten; WYPYCH, Fernando; DE FREITAS, Rilton Alves. Oleic acid as a synergistic agent in the formation of kaolinite-mineral oil pickering emulsions. **Applied Clay Science**, v. 216, p. 106378, 2022.

SINGH, Yuvraj et al. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 252, p. 28-49, 2017.

SIPPONEN, Mika Henrikki et al. All-lignin approach to prepare cationic colloidal lignin particles: stabilization of durable Pickering emulsions. **Green Chemistry**, v. 19, n. 24, p. 5831-5840, 2017.

SOUSA, Ana M.; PEREIRA, Maria J.; MATOS, Henrique A. Oil-in-water and water-in-oil emulsions formation and demulsification. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 210, p. 110041, 2022.

SPANGENBERG, Thomas. Alternatives to praziquantel for the prevention and control of schistosomiasis. **ACS Infectious Diseases**, v. 7, n. 5, p. 939-942, 2020.

SUBASHINI, R. **Oral Delivery of ascorbic acid stabilized rifampicin nanoparticles for enhanced bioavailability of rifampicin**. 2013. Tese de Doutorado. Swamy Vivekanandha College of Pharmacy, Tiruchengode.

SUN, Zhu et al. Pickering emulsions stabilized by colloidal surfactants: Role of solid particles. **Particuology**, v. 64, p. 153-163, 2022.

SUÑER, Joaquim et al. Development of clotrimazole multiple w/o/w emulsions as vehicles for drug delivery: effects of additives on emulsion stability. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, p. 539-550, 2017. DING, Shukai et al. Double emulsions prepared by two-step emulsification: History, state-of-the-art and perspective. **Journal of controlled release**, v. 295, p. 31-49, 2019.

SUSLICK, K. S.; MCNAMARA III, W. B.; DIDENKO, Y. Hot spot conditions during multi-bubble cavitation. In: **Sonochemistry and sonoluminescence**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1999. p. 191-204.

TAI, Zongguang et al. Utility of Pickering emulsions in improved oral drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 11, p. 2038-2045, 2020.

TAN, Chen; MCCLEMENTS, David Julian. Application of advanced emulsion technology in the food industry: A review and critical evaluation. **Foods**, v. 10, n. 4, p. 812, 2021.

- TANG, E. S. K.; HUANG, M.; LIM, Lee Yong. Ultrasonication of chitosan and chitosan nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 265, n. 1-2, p. 103-114, 2003.
- TANG, Qianqian et al. Effects of pH on aggregation behavior of sodium lignosulfonate (NaLS) in concentrated solutions. **Journal of Polymer Research**, v. 22, p. 1-10, 2015.
- TANG, Tao et al. Water-soluble Lignosulfonates: Structure, Preparation, and Application. **ChemistrySelect**, v. 8, n. 13, p. e202204941, 2023.
- THOMAS, Charlotte M.; TIMSON, David J. The mechanism of action of praziquantel: can new drugs exploit similar mechanisms?. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 5, p. 676-696, 2020.
- TIMSON, David J. Praziquantel: an enigmatic, yet effective, drug. **Schistosoma mansoni: Methods and Protocols**, p. 1-8, 2020.
- TOSHEV, Borislav V.; PLATIKANOV, Dimo. Wetting: Gibbs' superficial tension revisited. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 291, n. 1-3, p. 177-180, 2006.
- VAINIO, Ulla et al. Distribution of counterions around lignosulfonate macromolecules in different polar solvent mixtures. **Langmuir**, v. 28, n. 5, p. 2465-2475, 2012.
- VALE, Nuno et al. Praziquantel for schistosomiasis: single-drug metabolism revisited, mode of action, and resistance. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 5, p. e02582-16, 2017.
- WAECHTLER, Andreas et al. Praziquantel—50 years of research. **ChemMedChem**, v. 18, n. 12, p. e202300154, 2023.
- WANG, Chenzhi et al. Correlation study between structural parameters of droplets and rheological properties of O/W high internal phase Pickering emulsions above the closest packing density. **Food Hydrocolloids**, v. 158, p. 110594, 2025.
- WANG, Haisong et al. Ultrasound irradiation alters the spatial structure and improves the antioxidant activity of the yellow tea polysaccharide. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, p. 105355, 2021.
- WANG, Han et al. Assembly of porous filaments by interfacial complexation of nanochitin-based Pickering emulsion and seaweed alginate. **Carbohydrate Polymers**, v. 326, p. 121595, 2024.
- WANG, Xiao-Yan; HEUZEY, Marie-Claude. Chitosan-based conventional and Pickering emulsions with long-term stability. **Langmuir**, v. 32, n. 4, p. 929-936, 2016.
- WANG, Yingchao et al. Recent advances in lignosulfonate filled hydrogel for flexible wearable electronics: A mini review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 212, p. 393-401, 2022.
- WEI, Zihao; HUANG, Qingrong. Edible Pickering emulsions stabilized by ovotransferrin-gum arabic particles. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 590-601, 2019.

WEISS, Renate et al. Lignin-based pesticide delivery system. **ACS omega**, v. 5, n. 8, p. 4322-4329, 2020.

WHITBY, Catherine P.; PARTHIPAN, Rajendran. Influence of particle concentration on multiple droplet formation in Pickering emulsions. **Journal of colloid and interface science**, v. 554, p. 315-323, 2019.

WIBOWO, Eko Setio; PARK, Byung-Dae. Chemical and thermal characteristics of ion-exchanged lignosulfonate. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2755, 2023.

WIBOWO, Eko Setio; PARK, Byung-Dae. Chemical and thermal characteristics of ion-exchanged lignosulfonate. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2755, 2023.

WIDSTEN, Petri et al. Potential of lignin as antioxidant for thermoplastics and other materials. **Lignin**, v. 1, p. 11-19, 2020.

WOELFLE, Michael et al. Resolution of praziquantel. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 9, p. e1260, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. World Health Organization model list of essential medicines for children: 8th list (2021). In: **World Health Organization model list of essential medicines for children: 8th list (2021)**. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Summary of global update on implementation of preventive chemotherapy against NTDs in 2020. 2021b. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9638-468-475>> Acesso em: 22 mai. 2023

WURZER, Gerhild K. et al. Agricultural utilization of lignosulfonates. **Holzforschung**, v. 76, n. 2, p. 155-168, 2022.

WYSOCKA, Katarzyna et al. Characterization of thermal and mechanical properties of lignosulfonate-and hydrolyzed lignosulfonate-based polyurethane foams. **BioResources**, v. 11, n. 3, p. 7355-7364, 2016.

XU, Chunbao et al. Utilization of lignosulfonate as dispersants or surfactants. **Conversion of lignin into bio-based chemicals and materials**, p. 81-90, 2017.

XU, Jianan et al. Investigation of the contact angle and packing density of silica nanoparticles at a pickering emulsion interface fixed by uv polymerization. **Langmuir**, v. 38, n. 14, p. 4234-4242, 2022.

XU, Tian et al. Characteristics of starch-based Pickering emulsions from the interface perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 334-346, 2020.

XU, Tingting et al. Design of AgNPs doped chitosan/sodium lignin sulfonate/polypyrrole films with antibacterial and endotoxin adsorption functions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 229, p. 321-328, 2023.

YAN, Huiqiong et al. Entrapment of bacterial cellulose nanocrystals stabilized Pickering emulsions droplets in alginate beads for hydrophobic drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 177, p. 112-120, 2019.

- YAN, Mingfang et al. Influence of pH on the behavior of lignosulfonate macromolecules in aqueous solution. **colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, v. 371, n. 1-3, p. 50-58, 2010.
- YAN, Xiaojia et al. Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 103, p. 293-303, 2020.
- YANDRAPALLI, Naresh. Complex Emulsions as an Innovative Pharmaceutical Dosage form in Addressing the Issues of Multi-Drug Therapy and Polypharmacy Challenges. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 6, p. 707, 2024.
- YANG, Dingzheng; HRYMAK, Andrew N. Crystal morphology of hydrogenated castor oil in the crystallization of oil-in-water emulsions: Part I. Effect of temperature. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 50, n. 20, p. 11585-11593, 2011.
- YANG, Dongjie et al. Properties of sodium lignosulfonate as dispersant of coal water slurry. **Energy Conversion and Management**, v. 48, n. 9, p. 2433-2438, 2007.
- YANG, Yunqi et al. An overview of Pickering emulsions: solid-particle materials, classification, morphology, and applications. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, p. 235054, 2017.
- YAQOOB KHAN, Azhar et al. Multiple emulsions: an overview. **Current drug delivery**, v. 3, n. 4, p. 429-443, 2006.
- YOU, Hong et al. Transcriptional responses of in vivo praziquantel exposure in schistosomes identifies a functional role for calcium signalling pathway member CamKII. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 3, p. e1003254, 2013.
- ZANOLLA, Debora et al. A new soluble and bioactive polymorph of praziquantel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 127, p. 19-28, 2018.
- ZAREI, Mohammad et al. Evaluation of fracture resistance of asphalt concrete involving Calcium Lignosulfonate and Polyester fiber under freeze–thaw damage. **Theoretical and Applied Fracture Mechanics**, v. 117, p. 103168, 2022.
- ZEMBYLA, Morfo; MURRAY, Brent S.; SARKAR, Anwasha. Water-in-oil emulsions stabilized by surfactants, biopolymers and/or particles: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, p. 49-59, 2020
- ZHANG, Wenbo et al. High bio-content castor oil based waterborne polyurethane/sodium lignosulfonate composites for environmental friendly UV absorption application. **Industrial Crops and Products**, v. 142, p. 111836, 2019.
- ZHAO, Hui et al. A review of multiple Pickering emulsions: Solid stabilization, preparation, particle effect, and application. **Chemical Engineering Science**, v. 248, p. 117085, 2022.
- ZHU, Fan. Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 129-137, 2019.