

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

LUCAS URBANO JOSÉ

**Material Híbrido Orgânico-Inorgânico de
Apocarotenoide Natural e Hidróxido Duplo Lamelar
como Emulsificante de Pickering**

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890
O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
20/08/2021

LUCAS URBANO JOSÉ

**Material Híbrido Orgânico-Inorgânico de
Apocarotenoide Natural e Hidróxido Duplo Lamelar
como Emulsificante de Pickering**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Química*

Orientadora: Profa. Dra. Vera Regina Leopoldo Constantino

São Paulo
2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

J83m	José, Lucas Urbano Material Híbrido Orgânico-Inorgânico de Apocarotenoide Natural e Hidróxido Duplo Lamelar como Emulsificante de Pickering / Lucas Urbano José. - São Paulo, 2021. 166 p.
	Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental. Orientador: Constantino, Vera Regina Leopoldo
	1. hidróxido duplo lamelar. 2. apocarotenoide natural. 3. composto de intercalação. 4. emulsão. I. T. II. Constantino, Vera Regina Leopoldo, orientador.

*À minha avó Alice, por tudo,
e à natureza, por sê-la.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer

à **minha avó Alice**, com quem morei durante a graduação em Química, em Ribeirão Preto, que foi peça chave para que pudesse concluir o curso como concluí e pudesse ter chegado aqui, capaz de desenvolver um projeto de mestrado e escrever uma dissertação. Espero que, estando agora no céu que sempre muito acreditou, ela possa ver mais essa etapa concluída.

À **minha família** - minha mãe Maria de Fátima (ou Cida), meu pai Anizio (ou Nizião) e minha irmã Thamiris (ou só sis) - por todo apoio durante essa jornada, com todos os altos e baixos, as chegadas em casa muito tarde, os jantares e os momentos de descontração. Sem todos, não seria hoje quem sou.

Ao meu amigo Cláudio Ferreira (Clau, minha caninana preferida), por todo apoio durante os tempos de graduação e depois. Nunca esquecerei como foi dividir uma bancada de síntese orgânica ou mesmo dos nossos cafés da tarde no Válter, uma das rotinas que mais sinto falta. Todas as nossas chamadas de vídeo e áudio, noites jogando ou só conversando e suas primeiras leituras de (todos os) meus textos foram peças chave para a conclusão desse trabalho e para o meu crescimento como um todo.

A todos os integrantes do Laboratório de Sólidos Lamelares (LaSoL) do IQ da USP.

À professora Vera, líder do grupo, por toda orientação e ensinamentos durante o desenvolvimento do trabalho. As discussões sobre os materiais e sobre ciência, sobre possibilidades de futuro, política, química e conversas descontraídas foram incríveis e lembrarei para sempre. Também, sou muito grato pelo acolhimento a um estudante vindo de fora do IQ.

Aos estudantes de graduação e pós-graduação com quem convivi: Denise, Mariana, Carol, Vagner, Paulo, Bruna, Victor, Ana e Fernando. Vocês fizeram eu me sentir bem-vindo e acolhido num grupo novo, e numa

instituição diferente, serei eternamente grato. Em especial, gostaria de agradecer a Denise por ter sido quem me ensinou inicialmente as sínteses de HDL e onde as coisas estavam no laboratório e, nos tempos padêmicos, por ter sido a companhia durante os experimentos para (tentar) recuperar o tempo perdido. Também à Bruna, aluna de IC e uma ótima amiga, por ter sido a companhia de todos os dias (enquanto deu) e quem me identifiquei bastante.

Ao Ricardo, técnico do laboratório, que sempre foi muito solícito para me ajudar a entender como mexer nos equipamentos, para resolver algum problema que tinha ou encontrar alguma vidraria/reagente pelo laboratório.

A todos os integrantes do Laboratório de Coloides e Superfícies, da FFCLRP da USP de Ribeirão Preto.

À professora Ana Paula, líder do grupo, que foi minha primeira orientadora, me iniciando nessa carreira científica. Os ensinamentos que tive, tanto laboratoriais quanto elaboração de relatórios ou da vida, serão para sempre lembrados.

Aos estudantes de graduação e pós-graduação: Marcos, Lucas Bahia, João Pedro, Camila e Tamires com quem convivi na reta final de minha graduação e, até hoje, são amigos que considero demais, sempre ótimas companhias, tanto virtual quanto presencialmente.

A todos os meus amigos, pelo apoio e companheirismo de sempre. (se eu esquecer de alguém, perdoem, são tempos difíceis para a minha memória)

À Bia Luna, Flávia (Tranquilo), Maria Eduarda (Favorável) e Gabriel Faus (Verd) que, desde os tempos de Bateria Filormônica, foram presentes e apoiadores de todos os projetos. Estou com saudades e espero conseguir, um dia, batucar com vocês de novo.

Ao Wilson, por todas as conversas, pelos conselhos trocados de madrugada, pelos incentivos e por, diversas vezes, acreditar em mim mais do

que eu mesmo (mas sempre jogando na minha cara como eu me autossaboto, o que sou grato).

À Mari e à Bia, por todos os anos de amizade, pela companhia nas viagens, rolês pela cidade e conversas profundas (ou as vezes nem tanto) que, diariamente, sinto falta.

Aos outros amigos de Ribeirão Preto - Roberta, Victor (Tolá), Caio (Pink), Luiz (Lost) - que, graças à internet, me fizeram companhia ao longo desse período de pandemia, seja com boas piadas ou com momentos mais sérios, sempre dispostos a ajudar um ao outro.

À minha turma de alemão do centro de línguas da ACEPUSP: Cristina, Pedro, Alile, Malu e Alex, por terem embarcado nessa aventura que é o aprendizado de alemão, que serviu (por incrível que pareça) como um momento de escape dos momentos complicados que passamos. Também, agradeço ao Lehrer Matheus, o principal responsável por fazer as aulas serem incríveis, acolhedoras, com muito aprendizado e muita reflexão. *Danke für alles, Leute.*

Ao clube de leitura FSP Lê Mulheres, pelas leituras incríveis (especialmente por não se relacionarem a química), reflexões e conversas nas tardes de sábado (ou domingo) que trouxeram toda uma nova interação com o livro e criação de um vínculo de um jeito diferente. Que renasçamos em Anarres, querides.

À minha psicóloga Camila, que chegou já no meio do caminho e se tornou uma das principais razões para conseguir passar por tudo que passei nesse caminho das ciências naturais. As sessões, todas elas, as reflexões e as perguntas ficarão para sempre na minha memória. E que venham quantas mais forem necessárias.

Ao Prof. Flávio Vichi, do Instituto de Química da USP, pela permissão de utilizar o difratômetro de raios X para caracterização dos materiais, especialmente devido a existência de picos na região de baixo ângulo.

Ao Prof. Edvaldo e ao Fernando, do Instituto de Química da UNICAMP, pela realização e interpretação das medidas de reologia, essenciais para a compreensão dos sistemas obtidos.

Ao Prof. René, do Instituto de Química da UNICAMP, pela obtenção de imagens de microscopia confocal das emulsões preparadas e pela colaboração no trabalho.

Ao Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM) do Instituto de Química da USP pelos equipamentos para a realização de espectroscopia Raman. Em especial, ao pós-doc Dieric pelo auxílio nas medidas, pelas discussões relacionadas a espectroscopia e à ciência como um todo.

À Central Analítica do Instituto de Química da USP, pela realização de análise elementar e medidas de ICP-OES, que complementaram a caracterização dos materiais preparados neste trabalho.

À empresa Chr Hansen pelos extratos de urucum que tornaram a realização deste trabalho possível.

À FAPESP (2019/10002-7), pelo fomento necessário para a realização da pesquisa de agosto de 2019 até abril de 2021.

Ao CNPq (132769/2019-0), pelo fomento necessário para a realização da pesquisa de março a julho de 2019.

*“o real não está na saída nem na chegada:
ele se dispõe para a gente é no meio da travessia.”*

— João Guimarães Rosa

RESUMO

José, L.U. **Material híbrido Orgânico-Inorgânico de Apocarotenoide Natural e Hidróxido Duplo Lamelar como Emulsificante de Pickering.** 2021. 166p. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Emulsões de Pickering são emulsões em que uma partícula sólida é um estabilizante de fase, diferentemente dos tensoativos em solução de emulsões clássicas. Partículas em dimensão coloidal apresentam-se como as melhores candidatas para o processo de emulsificação, uma vez que o tamanho reduzido do material auxilia no recobrimento da fase dispersa e melhora a estabilidade do sistema final. Neste trabalho, buscou-se investigar a utilização de hidróxidos duplos lamelares (HDL) com ânion inorgânico (cloreto) e orgânico (apocarotenoides) como estabilizantes de Pickering. Estudou-se a intercalação, pelo método da coprecipitação lenta a pH constante, de dois corantes naturais - os apocarotenoides bixina e norbixina (derivados de urucum) - obtidos como extratos comerciais, posteriormente purificados e caracterizados principalmente por HPLC. A difratometria de raios X indicou a intercalação de ambos os ânions na matriz lamelar enquanto a espectroscopia vibracional (no infravermelho e Raman) permitiu verificar a manutenção de suas estruturas moleculares. Dada a necessidade de partículas de tamanho reduzido, o HDL intercalado com norbixinato (HDL_NBxn) também foi preparado pelo método de coprecipitação rápida. O HDL intercalado com íon Cl⁻ (HDL_Cl) foi usado para comparação, a fim de verificar a influência do ânion orgânico na estabilidade e nas propriedades da emulsão. Medidas de DLS mostraram que a coprecipitação rápida na presença e na ausência do íon orgânico afetou diretamente o tamanho das partículas formadas. As emulsões preparadas com dispersão de HDL_NBxn apresentaram elevada estabilidade e comportamento gel em todas as concentrações de dispersão utilizadas, enquanto as emulsões preparadas com HDL_Cl mostraram tal comportamento apenas na concentração mais elevada. Tal propriedade foi caracterizada por medidas de reologia oscilatória e os parâmetros que a descrevem mostraram-se dependentes da concentração de dispersão, da fração óleo presente na emulsão e do tipo de íon intercalado na matriz de HDL. O comportamento de gel pode ser o resultado da formação de uma rede tridimensional de gotículas unidas entre si por camadas em comum do estabilizante de HDL, como verificado por microscopia confocal. A presença de matriz inorgânica é chave para esse efeito, uma vez que emulsões com norbixinato não mostraram esse efeito. Considerando a biocompatibilidade da matriz de HDL e as propriedades da norbixina, as emulsões de Pickering merecem investigação para uso na área de cosméticos e farmacêutica.

Palavras-chave: hidróxido duplo lamelar; bixina; norbixina; compostos de intercalação; emulsão; Pickering.

ABSTRACT

José, L.U. **Natural Apocarotenoid and Layered Double Hydroxide Organic-Inorganic Hybrid Material as a Pickering Emulsifier**. 2021. 166p. Master's Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Pickering emulsions are emulsion in which the stabilizer is a solid-state particle instead of a surfactant. Colloidal size particles are good candidates to this goal, once a better particle layer around the dispersed phase droplet may be achieved and therefore higher stability to the system as a whole. This work pursues to understand how layered double hydroxides (LDH) with both inorganic (chloride) and organic (apocarotenoids) interlayer anions may act as Pickering emulsifiers. Intercalation with the pH-constant coprecipitation method of bixin and norbixin (two natural occurring anatto derivative apocarotenoids) was studied. Such species were commercially obtained, purified and characterized before the intercalation. X-ray diffraction measurements on the organically-modified LDH attested the intercalation of both anions and vibrational spectroscopy (infrared and Raman) assured that their structures were maintained. As small-sized LDH particles were a requirement, fast coprecipitation method was studied. The norbixin-intercalated LDH (LDH_NBxn) was chosen as the Pickering emulsifier, while chloride-intercalated LDH (LDH_Cl) would be helpful to the understanding of the anionic role on the emulsion. The LDH particles prepared in the presence and absence of the organic anion showed different results. The emulsions prepared with LDH_NBxn showed high stability and gel behavior in all concentrations used, while those prepared with LDH_Cl showed similar behavior only on the highest concentration. This behavior was characterized with oscillatory rheology measurements and the parameters that described the solid-state characteristic and its resistance were dependent on the dispersion concentration, the ion present on the LDH and the amount of oil phase used. Solid particles acting as bridges between two different dispersed-phase droplets may be responsible for the gel behavior, as a tridimensional array of droplets may be formed, as attested by confocal microscopic measurements. The inorganic layer plays a key role on the emulsion's final property, since emulsions prepared with only norbixinate did not show similar gel behavior. Considering the biocompatibility of the LDH material alongside to the properties of norbixin, the emulsions prepared here deserve further investigation regarding its application on cosmetics and pharmaceutical industry.

Keywords: layered double hydroxide; bixin; norbixin; intercalation compounds; emulsion; Pickering.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> , albumina do soro bovino
Bxⁿ	Íon bixinato, proveniente da desprotonação da bixina (ácido carboxílico)
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CHN	Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio
DLS	<i>Dinamic Light Scattering</i> , espalhamento de luz dinâmico
DRX	Difratometria de raios X
DS	Dodecilsulfato
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> , calorimetria exploratória diferencial
DTG	<i>Derivative Thermogravimetry</i> , primeira derivada da curva TG
FTIR-ATR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy - Attenuated Total Reflection</i> , espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier com acessório de reflexão total atenuada
H₂NBxⁿ	Norbixina (9'- <i>cis</i> -norbixina, ácido dicarboxílico)
HBxⁿ	Bixina (9'- <i>cis</i> -bixina, ácido carboxílico)
HDL	Hidróxido duplo lamelar

HDL_A	Hidróxido duplo lamelar de Zn ²⁺ e Al ³⁺ na proporção 2:1, com ânion A intercalado. A = Cl (cloreto), NBxn (norbixinato) ou Bxn (bixinato)
HDL_flash_A	HDL_A sintetizado pelo método de coprecipitação rápida (<i>flash</i>)
HPLC-PDA	<i>High Performance Liquid Chromatography with Photodiode-array detection</i> , cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo
HT	Hidrotérmico
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> , espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
MS	<i>Mass Spectrometry</i> , espectrometria de massas
NBxn²⁻	Íon norbixinato, proveniente da desprotonação completa da norbixina
o/w	Emulsões tipo óleo (fase dispersa) – água (fase contínua)
pH	Potencial hidrogeniônico
rcf	<i>Relative centrifugal force</i> , força centrífuga relativa
TG	<i>Thermogravimetry</i> , termogravimetria
UV	Ultra-violeta
w/o	Emulsões tipo água (fase dispersa) – óleo (fase contínua)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Apocarotenoides de Urucum: Bixina e Norbixina	16
1.2 Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL)	22
1.2.1 Estrutura e aplicações	22
1.2.2 Síntese: Coprecipitação	27
1.3 Emulsões de Pickering	39
2 OBJETIVOS	46
3 MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 Apocarotenoides Bixina e Norbixina	48
3.1.1 Purificação	49
3.1.2 Caracterização	51
3.2 Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL)	52
3.2.1 Coprecipitação lenta	52
3.2.2 Coprecipitação rápida	54
3.2.3 Caracterização	56
3.3 Emulsões de Pickering	58
3.3.1 Preparação	58
3.3.1.1 Estudo do processo de emulsificação	58
3.3.1.2 Estudo da influência da concentração de dispersão de HDL	59
3.3.2 Caracterização	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1 Apocarotenoides Bixina e Norbixina	62
4.2 Hidróxidos Duplos Lamelares	76
4.2.1 Materiais obtidos por coprecipitação lenta	77
4.2.2 Materiais obtidos por coprecipitação rápida	94
4.3 Emulsões de Pickering	107
4.3.1 Influência do processo de emulsificação	108
4.3.2 Influência da concentração da dispersão de HDL	111
4.3.3 Influência do íon intercalado na matriz de HDL	128
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	142
6 REFERÊNCIAS	145
ANEXO	158

1 | INTRODUÇÃO

1.1 | Apocarotenoides de Urucum: Bixina e Norbixina

O urucuzeiro (*Bixa orellana* L.) é uma árvore encontrada na região tropical da América Latina, provavelmente nativa da floresta Amazônica brasileira, e cultivada em países como Colômbia, México e Equador (RADDATZ-MOTA et al., 2017). É uma espécie pertencente à subdivisão das angiospermas e à classe das dicotiledôneas, é pequena (em geral, atinge 6 m de altura), possui copa vasta e galhos abundantes (STRINGHETA; SILVA; COSTA, 2018). Seus frutos, chamados de urucum, consistem em sementes pequenas, com pericarpo (camada em torno da semente) vermelho escarlate, alojadas no interior de cascas em formato ovoide, vermelhas e recobertas por estruturas espinhosas flexíveis (KANG et al., 2010).

As sementes brutas do urucum são compostas por celulose, monossacarídeos, óleo essencial, lipídeos, pigmentos, proteínas, resíduos minerais e elementos traço (STRINGHETA; SILVA; COSTA, 2018). No Brasil, o corante das sementes de urucum é conhecido como colorau (EMBRAPA, 2009), formado principalmente por espécimes liofilizados (indústria) ou secos ao sol (natural) (STRINGHETA; SILVA; COSTA, 2018) e depois triturados. A coloração final do produto depende da quantidade relativa de bixina e norbixina (apocarotenoides) presentes, variando de vermelho escuro a amarelo (RADDATZ-MOTA et al., 2017).

1 | Introdução

A utilização do corante de urucum na indústria alimentícia tornou-se cada vez mais presente uma vez que o emprego de corantes de fontes naturais tem sido preferido ao uso de sintéticos. Essa substituição se deu, principalmente, quando os corantes sintéticos passaram a ser um problema por apresentarem efeitos nocivos (como poluição ambiental e carcinogenicidade) devido aos subprodutos de sua degradação térmica (como aminas aromáticas) (SHAHID-UL-ISLAM; RATHER; MOHAMMAD, 2016). Dessa forma, os corantes de origem natural são preferidos devido a melhores biodegradabilidade e compatibilidade ambiental, sendo, então, adicionados em sorvetes, queijos, salsichas, iogurte e margarinas (SHAHID-UL-ISLAM et al., 2014).

Os carotenoides são pigmentos tetraterpenoides biossintetizados em organismos fototrópicos, podendo ser encontrados tanto na forma livre quanto associada a ácidos graxos; possuem estrutura de polieno conjugada e, por isso, são capazes de absorver a luz na região do visível (SAINI; NILE; PARK, 2015). Os apocarotenoides são derivados desses compostos e são obtidos após clivagem oxidativa em alguma de suas ligações duplas, gerando, dependendo de sua posição, aldeídos ou cetonas (HARRISON; BUGG, 2014). As enzimas que catalisam essas reações pertencem à família das dioxigenases, ou CCD (do inglês, *carotenoid cleavage dioxygenases*), caracterizadas por terem o íon Fe^{2+} como cofator, resíduos de histidina conservados e sequência carboxiterminal fixa (AULDRIDGE; MCCARTY; KLEE, 2006).

1| Introdução

Na semente do urucum, a rota mais recentemente relatada (CÁRDENAS-CONEJO et al., 2015) da biossíntese da bixina (HBxn) sugere que seu precursor seja o licopeno, onde, *via* ação de enzimas CCD, torna-se aldeído-bixina, depois norbixina (H₂NBxn) (*via* aldeído desidrogenase) e, por último, sob ação de uma metiltransferase, é transformado no produto final. A **Figura 1** apresenta a estrutura geral desses compostos: as duplas conjugadas responsáveis por suas cores e reatividade, assim como pelo elevado número de isômeros possíveis (onde o isômero *trans* apresentado é o mais estável termodinamicamente (SCOTTER, 2009)), e os grupos funcionais que os diferenciam, a saber, a H₂NBxn, um diácido carboxílico, enquanto que a HBxn é um monoéster desse ácido.

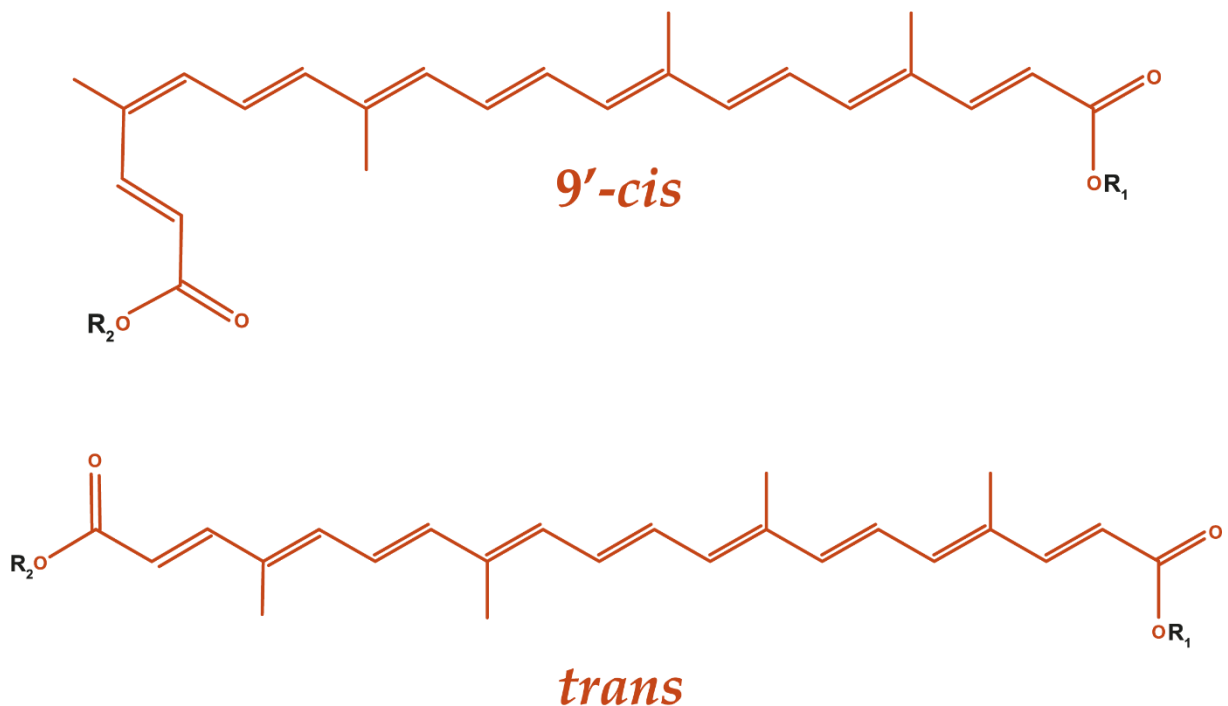


Figura 1 | Estrutura química das moléculas de bixina (R₁ = H, R₂ = CH₃) e norbixina (R₁ = R₂ = H). **Fonte:** Adaptado de (SCOTTER, 2009).

O composto que apresenta maior concentração nas sementes de urucum é a 9'-*cis*-bixina, somando cerca de 80 % de seu extrato (GARCIA et al., 2012), e pode ser

1 | Introdução

separado dos demais componentes e isômeros por HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) em fase reversa (coluna C_8/C_{18}) (SCOTTER, 2009), tal qual seus precursores carotenoides (coluna C_{30}) (SAINI; NILE; PARK, 2015). Em termos laboratoriais, pode-se realizar a conversão *cis-trans* do composto a partir de seu aquecimento em uma suspensão oleosa a 130 °C, à pressão reduzida (SCOTTER, 2009; SCOTTER et al., 1994), ou por isomerização induzida por fótons (MONTENEGRO et al., 2004). Já o isolamento do isômero *trans* pode ser feito por HPLC e sua identificação, quando comparada ao isômero *cis*, pode ser feita por espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível, uma vez que é observado deslocamento das bandas para região de maior comprimento de onda, caracterizando o corante por sua coloração avermelhada (SCOTTER et al., 1994).

A obtenção de extratos concentrados desses compostos é feita por diferentes métodos, considerando as diferenças químicas entre esses compostos. Extratos de bixina são, em geral, obtidos por meio de extração com solventes orgânicos, principalmente o clorofórmio (MAIA et al., 2020). Já os extratos de norbixina são obtidos a partir da extração utilizando soluções alcalinas (NaOH ou KOH), a quente, responsáveis por hidrolisar o grupo éster do composto 9'-*cis*-bixina, gerando o sal de norbixina que, em meio ácido, se torna o 9'-*cis*-norbixina (STRINGHETA; SILVA; COSTA, 2018).

Além de sua tradicional aplicação como corante alimentício, os extratos de urucum citados têm recebido maior interesse devido a potenciais aplicações em

1 | Introdução

outras áreas, principalmente por suas propriedades bactericida e fungicida (RIVERA-MADRID et al., 2016; SHAHID-UL-ISLAM; RATHER; MOHAMMAD, 2016), capacidade de remoção de radicais livres (CHISTÉ et al., 2011) e ação anticâncer (SANTOS et al., 2016). Recentemente, têm sido estudados como corantes naturais para alternativa aos corantes sintéticos aplicados em células solares sensibilizadas por corantes (DSSC, *dye-sensitized solar cell*) (CALOGERO et al., 2018; RICHHARIYA et al., 2017).

Apesar de seu amplo potencial de aplicação, os maiores problemas encontrados durante testes realizados giram em torno da estabilidade desses compostos (SCOTTER, 2009). Uma vez que apresentam elevada atividade antioxidante, estão sujeitos a sofrerem ação de espécies reativas, como o oxigênio molecular, de forma que se decompõem em taxas elevadas quando expostos a esses ambientes por muito tempo. Além disso, a exposição à luz solar (como nas células solares) ou à temperatura elevada (na indústria de alimentos) também leva à sua degradação devido a reações de isomerização e formação de subprodutos de cadeias menores que implicam escurecimento ou perda da cor desejada (SCOTTER, 1995).

A formação de complexos de inclusão em ciclodextrina (LYNG; PASSOS; FONTANA, 2005), o encapsulamento com caseína (ZHANG; ZHONG, 2013), o nanoencapsulamento com lipídios (LOBATO et al., 2015) e a formação de filmes poliméricos (STOLL et al., 2019) são propostas presentes na literatura que almejam o

1 | Introdução

aumento da estabilidade (térmica, química) para esses corantes a fim de aumentar suas possibilidades de aplicação.

Em trabalho recente do nosso grupo de pesquisa (PEROTTI et al., 2020), relatou-se a intercalação e caracterização de íons norbixinato em matriz de hidróxido duplo lamelar (HDL, descrito na Seção 1.2) e, também, a determinação da capacidade de remoção de radicais livres por esse material. Esse trabalho serviu de inspiração para o desenvolvimento da presente dissertação, uma vez que já se sabia da possibilidade de intercalação dos íons provenientes de apocarotenoides em matriz lamelar. Aqui, será relatado não só a intercalação do íon norbixinato como também do íon bixinato.

A escolha desses íons se deu tanto pelo fato de ambos serem corantes naturais que vêm ganhando atenção da comunidade científica por outras propriedades supracitadas, como pela possibilidade da aplicação do material híbrido orgânico-inorgânico como emulsificante de Pickering (emulsões estabilizadas por partículas sólidas, descritas na Seção 1.3). O tamanho e o tipo da cadeia carbônica que forma os compostos a serem utilizados, assim como a existência de carga em suas extremidades, poderiam servir, em teoria, para dois objetivos: *(i)* ação como estabilizante dos hidróxidos duplos lamelares (HDL, discutidos a seguir) em dimensão coloidal, aumentando, então, sua estabilidade em suspensão; e *(ii)* tornar a superfície dos HDL mais hidrofóbica, que poderia auxiliar na formação das emulsões.

1.2 | Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL)

Um composto lamelar é definido como sendo material cristalino no qual há ligações químicas entre átomos em suas camadas (lamelas), enquanto que as interações entre essas lamelas são consequência de sua estrutura, podendo ser eletrostática, no caso de existência de carga líquida, ou por meio de interações fracas (ligações de hidrogênio, por exemplo) (SCHOONHEYDT et al., 1999). Dos compostos lamelares sintéticos de interesse, pode-se citar os hidróxidos duplos lamelares (HDL) e a atenção que eles recebem é devido, principalmente, à possibilidade de intercalação que essas estruturas possuem, isto é, a capacidade de inserir espécies na região entre as camadas sobrepostas mantendo a estrutura lamelar original (SCHOONHEYDT et al., 1999).

1.2.1 | Estrutura e aplicações

Os HDL são conhecidos como *compostos tipo hidrotalcita* (mineral que possui a fórmula $[\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ou como *argilas aniônicas*, possuindo fórmula geral $[\text{M}^{2+(1-x)}\text{M}^{3+x}(\text{OH})_2][\text{A}^{n-}]_{x/n} \cdot z\text{H}_2\text{O}$ (CUNHA et al., 2010).

A estrutura desses materiais se assemelha à do mineral brucita ($\text{Mg}(\text{OH})_2$), formado por lamelas de octaedros unidos por aresta, nos quais há ânions hidroxila localizados nos vértices dessa estrutura e que se coordenam ao íon metálico central Mg^{2+} , tornando-a eletricamente neutra (VACCARI, 1998). No caso dos hidróxidos duplos, ocorre uma substituição isomórfica de forma que alguns dos cátions divalentes são trocados por cátions trivalentes, gerando carga residual positiva,

1 | Introdução

implicando necessidade de ânions no espaço interlamelar para que haja compensação de carga (BUKHTIYAROVA, 2019). A **Figura 2** apresenta a estrutura do mineral brucita e uma representação esquemática dos HDL.

Para que seja possível a formação das lamelas, é necessário que os cátions metálicos sejam capazes de ter coordenação octaédrica, além de ter raio semelhante ao do íon magnésio. Assim, experimentalmente, verifica-se que o raio está no intervalo $0,50 - 0,74 \text{ \AA}$, e íons maiores tendem a desestabilizar a lamela (CAVANI; TRIFIRO; VACCARI, 1991). Dos cátions divalentes que costumam ser utilizados nesses materiais, cita-se o Mg^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} e o Zn^{2+} , enquanto que, dos cátions trivalentes, pode-se citar o Al^{3+} , Fe^{3+} ou Cr^{3+} (ZHAO et al., 2012).

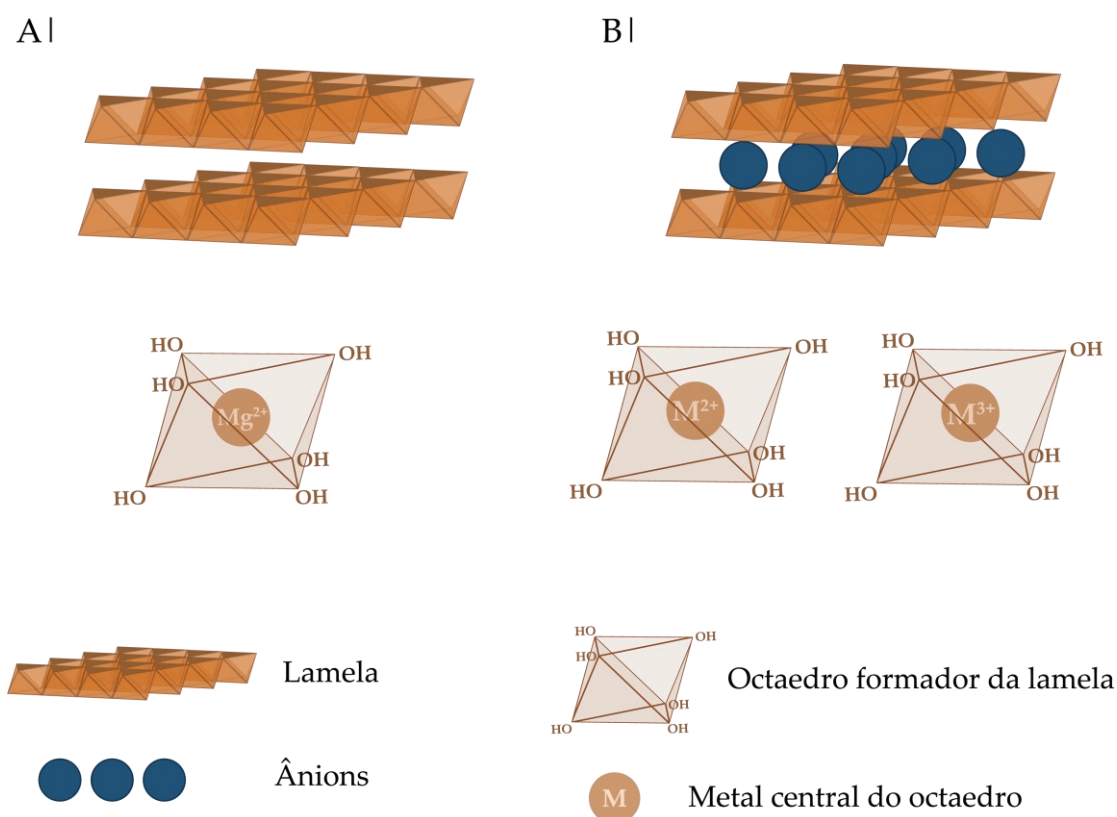


Figura 2 | A. Representação da estrutura da brucita ($\text{Mg}(\text{OH})_2$); **B.** Representação da estrutura de um hidróxido duplo lamelar (HDL). **Fonte:** **A.** Adaptado da estrutura obtida utilizando programa VESTA® e CIF para o mineral brucita (ICSD #34401); **B.** Adaptado de (FIGUEIREDO et al., 2018).

1 | Introdução

A literatura (CREPALDI; VALIM, 1998) descreve a classificação das estruturas de HDL em, principalmente, dois tipos, a saber: romboédrico (com notação 3R) e hexagonal (com notação 2H), que diferem na forma de empilhamento das lamelas. O primeiro deles é caracterizado por pertencer ao grupo espacial R-3m, de forma que o parâmetro c da célula unitária é três vezes o espaçamento basal (em geral, é o pico de maior intensidade, aparecendo na região de baixo ângulo, em análise do material por difratometria de raios X). O segundo deles é caracterizado por estar no grupo espacial $P6_3mmc$, e o parâmetro c da célula unitária é duas vezes o espaçamento basal. Ainda, relata-se um terceiro polítipo, chamado 1H, encontrado em HDL intercalado com íons sulfato e com elevada hidratação, cujo parâmetro c da célula unitária é igual ao espaçamento basal. Essas classificações podem ser compreendidas por meio das representações da **Figura 3**.

A necessidade de ânions na região interlamelar desses sólidos, gerada pelo excesso de carga decorrente da substituição isomórfica dos cátions bivalentes pelos trivalentes, é que dá a base para a maioria das aplicações dos HDL. Isso acontece, pois basta a existência de carga negativa (em conjunto com favorecimento termodinâmico) para que a espécie ocupe o espaço entre as lamelas. Assim, dependendo da aplicação desejada, basta utilizar o ânion que seria capaz de fornecer essa propriedade aos materiais, tornando-os funcionais. Alguns exemplos da versatilidade que esses materiais podem atingir são dados a seguir.

1 | Introdução

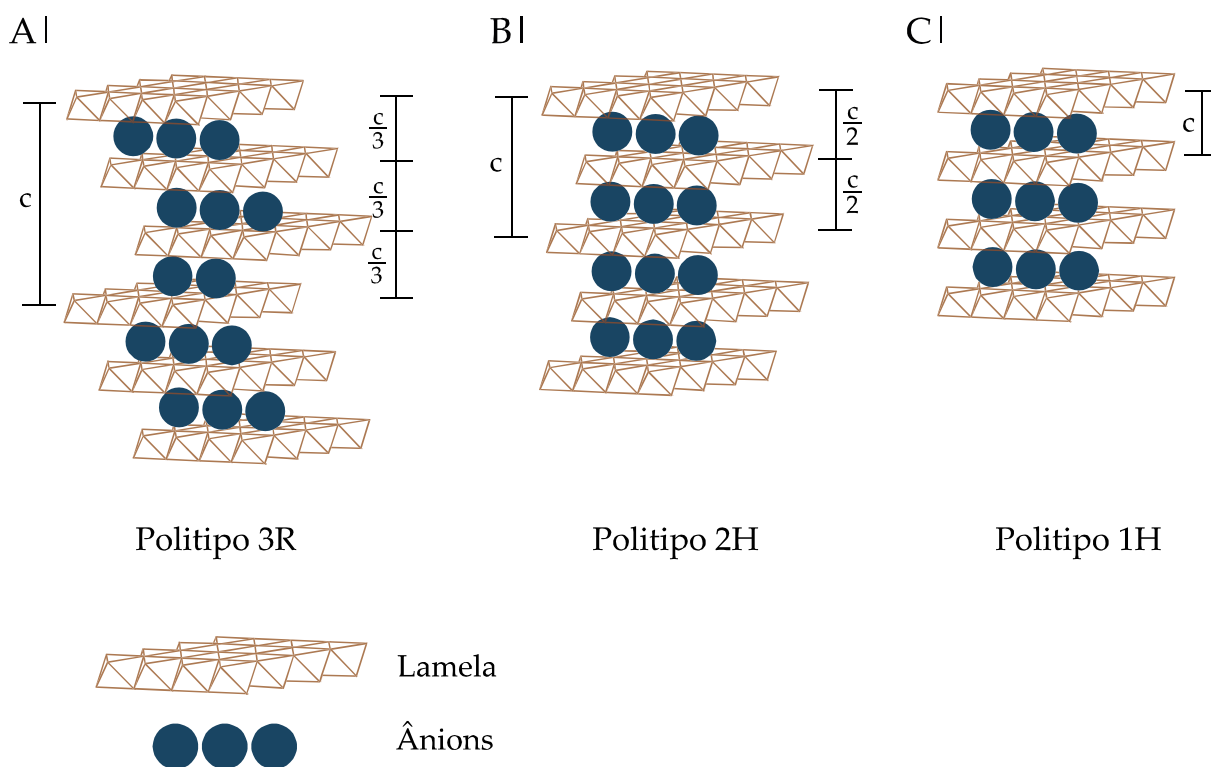


Figura 3| Representação esquemática dos polítipos de HDL relatados na literatura. **A.** Polítipo 3R; **B.** Polítipo 2H; **C.** Polítipo 1H. **Fonte:** Adaptado (CREPALDI; VALIM, 1998).

Em trabalho na literatura (YU et al., 2015), desenvolveu-se um híbrido orgânico-inorgânico à base de HDL de Zn^{2+} e Al^{3+} na proporção 2:1 e de ácido piromelítico, um ácido tetracarboxílico, visando a remoção de fosfato de solução aquosa. O planejamento desse material foi feito, segundo os autores, devido ao fato de os grupos carboxílicos terem certa afinidade por espécies de fosfato, já que podem realizar ligações de hidrogênio com eles, sendo, portanto, seletivo para esses íons. De fato, de acordo com o relatado, o material sintetizado apresentou adsorção preferencial de íons fosfato e, comparando com o HDL intercalado com ânion cloreto, maior quantidade adsorvida.

Outro trabalho (MOHSIN et al., 2018) relata a intercalação de duas moléculas, ambas em um mesmo HDL, com absorção nas regiões do UV (UVA, UVB e UVC),

1 | Introdução

visando futura atuação do material híbrido como protetor solar. A intercalação se mostrou eficiente em retardar a liberação dos compostos, propriedade interessante já que esses compostos podem ser danosos para a pele, e estudos de viabilidade celular não mostraram citotoxicidade. Além disso, os autores observaram que a cointercalação dos dois agentes altera a absorção na região do ultravioleta quando comparados às moléculas isoladas, porém a proporção entre os ânions no produto final não altera tal propriedade.

Além disso, a literatura descreve (FIGUEIREDO et al., 2018) a síntese e a caracterização de HDL ternários à base de Zn^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} ou de Mg^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} intercalados tanto com ânions cloreto quanto com uma molécula orgânica anti-inflamatória. A motivação para o trabalho estava no preparo de um material com menor quantidade de um cátion exógeno (o alumínio), que foi feito utilizando um outro cátion trivalente que é endógeno (o ferro). A verificação de biocompatibilidade dos materiais contendo ânions cloreto, por meio de ensaios histológicos realizados após implante de um disco do material na região abdominal do animal, mostrou que eles seriam interessantes para aplicação e entrega locais de um fármaco. Assim, a intercalação da molécula orgânica por troca-iônica, seguida por ensaios de liberação *in vitro*, mostrou liberação modificada e potencial aplicação do material como carreador local para entrega do fármaco.

1.2.2 | Síntese: Coprecipitação

Há variados métodos de síntese para os HDL, a saber: hidrólise de ureia, síntese hidrotérmica, troca-iônica, reidratação e coprecipitação (CREPALDI; VALIM, 1998; MISHRA; DASH; PANDEY, 2018). O método de síntese por hidrólise de ureia consiste em realizar a decomposição da ureia, que gera íons NH_4^+ e CO_3^{2-} e implica pH alcalino suficiente para precipitar hidróxidos de metais, na presença de uma solução dos cátions di- e trivalentes desejados, levando à formação dos HDL; esse método gera partículas no formato de hexágonos e elevada cristalinidade (COSTANTINO et al., 1998). Já o método de reidratação consiste em calcinar um HDL (gerando um óxido metálico misto) preparado anteriormente por algum outro procedimento de síntese, e depois submetê-lo a hidratação em uma solução do ânion que se deseja intercalar; nesse meio, a água é absorvida e as lamelas são reconstruídas, o que permite que o ânion se aloje na região interlamelar (DUAN; EVANS, 2006, p. 106, 107).

Os materiais sintetizados no presente trabalho foram feitos, como será descrito na Seção 3.2, pelos métodos chamados de coprecipitação lenta e rápida (ou *flash*). Esse estudo foi realizado para verificar se o procedimento feito de forma rápida gerava materiais estruturalmente semelhantes àqueles sintetizados de forma lenta. Além disso, por meio dessa alteração na velocidade de precipitação, esperava-se obter HDL com tamanho e estabilidade coloidal, característica importante para sua aplicação como estabilizante de Pickering e difícil de atingir pela síntese lenta. Por

1 | Introdução

isso, essa seção discorrerá principalmente sobre esse tipo de procedimento, a fim de ilustrá-lo e, brevemente, tentar entender o porquê de a alteração realizada poder levar ao HDL com as características desejadas.

Na síntese por coprecipitação, utiliza-se como precursor uma solução com a proporção desejada dos cátions di- e trivalente escolhidos e se busca a precipitação simultânea (razão do nome) do hidróxido desses dois cátions, assim, a concentração de íons OH^- e, portanto, o valor do pH, é um dos fatores chave nessa síntese. Esse procedimento pode ser realizado de duas formas, a saber: em condição de baixa supersaturação e em condição de alta supersaturação (NG'ETICH; MARTINCIGH, 2021).

O exemplo mais frequente que caracteriza a primeira forma consiste no gotejamento da solução de mistura de cátions sobre a solução do ânion que se pretende intercalar (ou sobre água); concomitantemente, há a adição de uma solução de base (em geral, forte) para manutenção do valor do pH desejado. O controle do pH pode ser realizado manualmente, porém a utilização de um titulador automático é recomendada (DUAN; EVANS, 2006, p. 93–95). Um exemplo do sistema utilizado para essa síntese está na **Figura 4**.

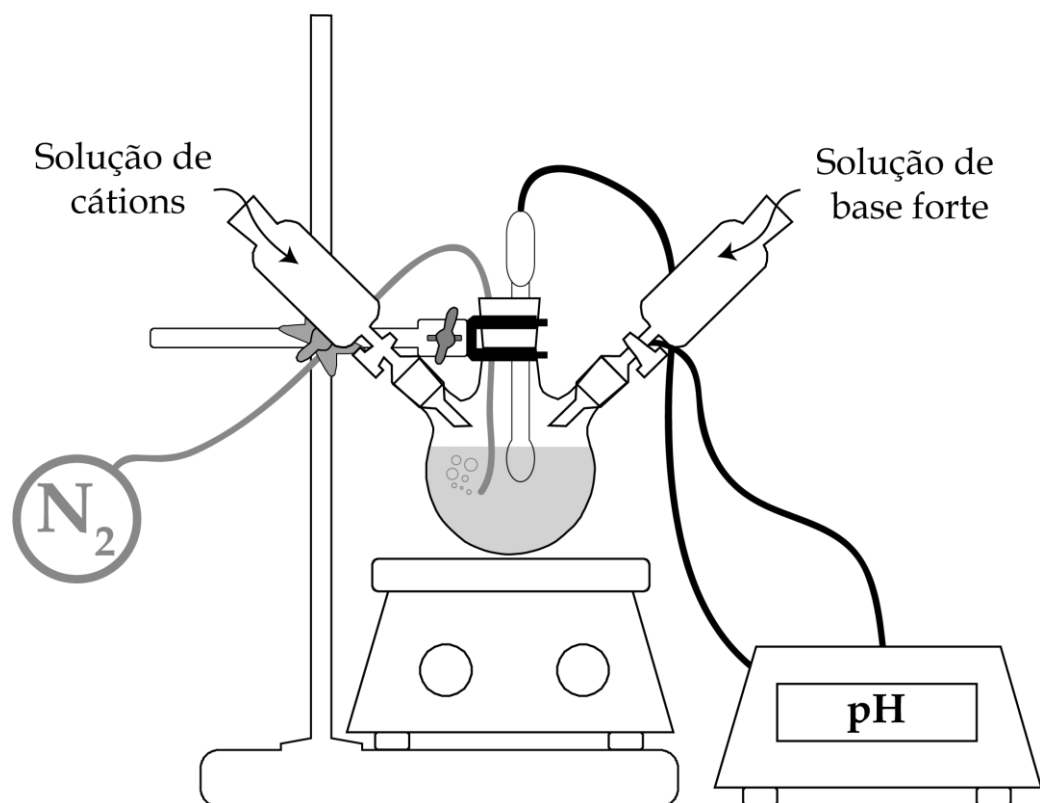
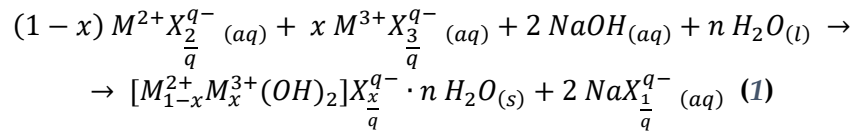


Figura 4 | Representação do sistema utilizado para a síntese de HDL em condição de baixa supersaturação. **Fonte:** Adaptado de (EULÁLIO, 2019).

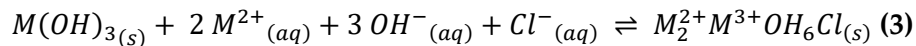
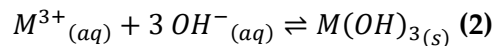
O borbulhamento de N_2 é feito para reduzir a possibilidade de intercalação de íons carbonato (gerados após dissolução de CO_2 atmosférico em ambiente alcalino), que apresentam elevada afinidade por HDL, e podem levar à formação de uma segunda fase no precipitado final. Nesse tipo de síntese, fatores como o valor do pH de síntese, a concentração e a natureza da base, o tempo e a temperatura de envelhecimento a concentração total de cátions e a razão molar entre eles estão entre os fatores que se pode controlar para obtenção do material desejado (BUKHTIYAROVA, 2019). O crescimento de partículas por meio do fenômeno conhecido como envelhecimento de Ostwald, aqui, e doravante, simplificadamente chamado apenas de envelhecimento, é um processo em que há dissolução de partículas menores e deposição das espécies dissolvidas sobre a superfície de

1 | Introdução

partículas maiores, implicando aumento do tamanho de partícula médio da dispersão (ALEMÁN et al., 2007). A equação da reação química que descreve o preparo desses materiais está apresentada na **Equação 1** (BERGAYA; THENG; LAGALY, 2006, p. 1028):



O mecanismo proposto para a síntese desses materiais é que há hidrólise e condensação dos hexa-aquocomplexos dos metais em solução para a formação da lamela tipo brucita, em conjunto com a distribuição dos ânions solvatados na região interlamelar (RIVES, 2001, p. 9). Caso não haja controle do valor do pH durante a síntese, de forma que, por exemplo, a solução básica seja adicionada sobre a solução dos cátions, ocorre primeiramente a precipitação do hidróxido (ou oxihidróxido) do cátion trivalente (**Equação 2** para o caso de formação de hidróxido), seguido, então, da precipitação do HDL propriamente dito (**Equação 3** (BOCLAIR; BRATERMAN, 1999).



É importante ressaltar que Bocclair e Braterman realizaram medições de pH ao longo da adição de base forte (NaOH) e propuseram esse mecanismo considerando a existência de duas regiões de tamponamento nas curvas de titulação realizadas. Além disso, salienta-se que esse estudo foi feito apenas na presença do ânion Cl⁻ e com controle da força iônica, de maneira que foi entendida apenas a influência da

1 | Introdução

composição da lamela na precipitação do material. Em estudo semelhante (HAN et al., 1996), porém utilizando base fraca (NH_3), o comportamento em relação às duas regiões de tamponamento também foi observado. Entretanto, nesse caso, os autores relataram a precipitação de outra fase (gibbsita, $\gamma\text{-Al(OH)}_3$) quando a razão entre os metais (Mg:Al) foi de 1:1 e 2:1 e a pureza de fase em relação à estrutura do HDL foi observada apenas em razão 3:1.

A coprecipitação em condição de alta supersaturação consiste em adicionar a solução dos cátions em uma solução alcalina do ânion de interesse. Nesse método, há variação constante do valor do pH (diminuição) de forma que é possível que ocorra a precipitação/formação de espécies indesejadas (M(OH)_2 e/ou M(OH)_3), resultando num HDL sem pureza de fase cristalográfica e provavelmente com a razão de cátions inicialmente desejada alterada (DUAN; EVANS, 2006, p. 95).

A obtenção desses materiais em estado coloidal se faz interessante dada a versatilidade já mencionada e a possibilidade de aplicação em biomedicina (SUN; NEUPERGER; DEY, 2015), ou, como foco deste trabalho, emulsificantes de Pickering (YANG et al., 2006, 2007). A literatura (DE SOUSA FILHO; SERRA, 2015) mostra que para se obter baixa polidispersividade de partículas em suspensão é necessário que haja formação simultânea de todos os núcleos do sólido (nucleação). Além disso, a fim de se obter dispersão homogênea das partículas, tal processo deve ser rápido, enquanto o crescimento (envelhecimento) desses núcleos deve ser lento. Os autores

1 | Introdução

evidenciaram, também, que uma síntese realizada sem controle algum dessas etapas leva ao aparecimento de agregados unidos de forma aleatória.

De fato, para a maioria dos HDL relatados na literatura, observa-se que a realização dos procedimentos de coprecipitação (em baixa ou elevada supersaturação) acontecem em um intervalo de tempo relativamente longo (1 h ou mais). Assim, os núcleos formados inicialmente passam pelo processo de envelhecimento mais tempo do que aqueles formados próximo ao final da síntese, de forma que não há uma separação propriamente dita do processo de nucleação, e ao final há elevada variação do tamanho das partículas obtidas (DUAN; EVANS, 2006, p. 97). Assim, é uma boa alternativa o desenvolvimento de procedimentos de síntese que busque separar esses dois eventos.

Relata-se (ZHAO et al., 2002), também, o desenvolvimento de um método que consiste na mistura rápida da solução de cátions (Mg^{2+} e Al^{3+}) com a solução de base forte (NaOH) em um aparato específico, seguido de posterior tratamento a 100 °C por 13 h. A concentração de íons Mg^{2+} era de 1,6 mol dm^{-3} e a razão entre os cátions foi fixada para 2, 3 ou 4, já a concentração da solução básica era sempre 1,6 vezes maior que a concentração de cátions total ($Mg^{2+} + Al^{3+}$). O aparato utilizado era um moinho coloidal (**Figura 5A**, (DUAN; EVANS, 2006, p. 98)), formado por um rotor cônico e um estator com uma separação de 10 μm entre eles, que rodava numa velocidade de 3000 rpm. Eles estudaram diferentes razões de cátions e obtiveram partículas de aproximadamente 100 nm para as razões 2:1 e 3:1 (**Figura 5B**, (ZHAO et

1 | Introdução

al., 2002)). De forma comparativa, o material obtido era, do ponto de vista de pureza de fase cristalográfica, semelhante àquele sintetizado pela coprecipitação a pH constante. A explicação fornecida para a obtenção de partículas em tamanho reduzido foi que a nucleação acontecia de forma muito rápida no moinho coloidal e a mistura dos reagentes acontecia num fino filme (na região entre o cone e o estator) sob altas pressão e vibração. Assim, o processo de agregação dos núcleos recém-formados não era favorecido e eles permaneciam com tamanho mínimo.

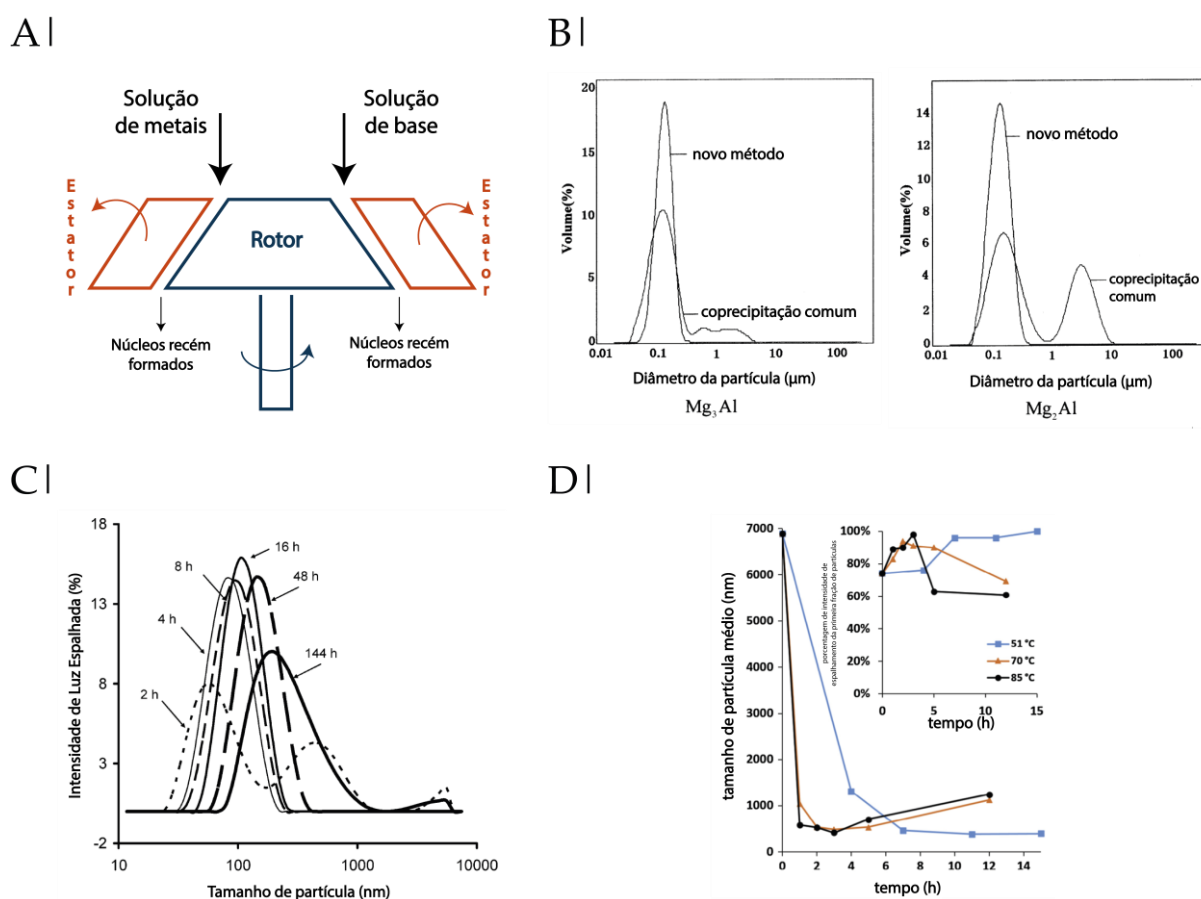


Figura 5. **A**. Moinho coloidal; **B**. Tamanho de partícula obtido pelo novo método utilizado; **C**. Distribuição de tamanho de partícula em função do tempo de tratamento HT a 100 °C; **D**. Tamanho de partícula médio obtido em função do tempo de tratamento HT em diferentes valores de temperatura, (inserção) é a porcentagem de luz espalhada da fração primária de partícula. Conjunto de imagens retiradas, adaptadas e traduzidas da literatura, com permissão dos editores da ACS e Elsevier.

1 | Introdução

Em estudo com HDL de Mg^{2+} e Al^{3+} (XU et al., 2006), na proporção 2:1, intercalado com íons cloreto, realizaram a síntese por meio de coprecipitação em condição de supersaturação e rápida (aproximadamente 5 s), seguida de tratamento hidrotérmico (HT) por diferentes intervalos de tempo. Eles observaram que as partículas recém preparadas se apresentavam em duas populações, uma com tamanho por volta de 320 e a outra de 2300 nm. Com 2 h de tratamento HT, obteve-se dispersão de tamanhos bimodal, enquanto que após 4 h essa distribuição se tornou unimodal com tamanho por volta de 89 nm e o aumento do intervalo de tempo levou ao aumento do tamanho até obtenção de dispersão bimodal com 144 h (**Figura 5C**, (XU et al., 2006)).

Os autores descrevem o mecanismo da obtenção das dispersões como sendo um processo dinâmico. Entre 2 e 4 h de tratamento hidrotérmico há a desagregação, que é promovida, principalmente, pela dissolução de partículas de HDL amorfo e formação de HDL cristalino, em conjunto com a separação dos agregados maiores em seus componentes menores devido à elevação do movimento Browniano das partículas. A partir de 4 h de tratamento, há majoritariamente o fenômeno de crescimento das partículas, que acontece tanto pelo mecanismo de dissolução-reprecipitação (inicialmente) quanto pela reagregação das partículas após um longo intervalo de tempo, gerando as partículas de tamanho maior.

Pesquisadores (SUN; DEY, 2015) realizaram estudos com HDL de Zn^{2+} e Al^{3+} intercalados com NO_3^- e CO_3^{2-} ou com mistura deles, em busca de entender o

1 | Introdução

processo de crescimento das partículas de HDL. O processo de síntese consistia em coprecipitação com controle preciso (e otimizado) sobre a taxa de adição e a velocidade de agitação da mistura, o processo de nucleação era rápido, de forma que a síntese acontecia em aproximadamente 42 s, seguido do envelhecimento realizado com tratamento hidrotérmico.

Além disso, os autores observaram que, em HDL intercalados apenas com íons nitrato, há, em temperatura ambiente, a formação de um aglomerado grande (diâmetro hidrodinâmico de aproximadamente 7 μm) e de partículas não cristalinas. Após 3 h de tratamento hidrotérmico a 85 °C, conseguiu-se uma dispersão de diâmetro hidrodinâmico médio igual a 415 nm, enquanto intervalos de tempo maiores levavam à perda de monodispersividade. A redução da temperatura para 70 °C e intervalos de tempo semelhantes não melhorou a dispersão, enquanto o tratamento a 50 °C necessitou de pelo menos 7 h de tratamento HT para obtenção de monodispersão (**Figura 5D**, (SUN; DEY, 2015)).

Em relação à mistura, isto é, HDL preparado na presença de íons nitrato e carbonato, observou-se que a precipitação em temperatura ambiente também leva à formação de materiais amorfos e que tratamento HT é necessário para tornar esses materiais cristalinos, estáveis em suspensão e monodispersos. Porém, observou-se que a obtenção das nanopartículas nessas condições estava relacionada com a quantidade presente de cada ânion. O HDL sintetizado com 0 a 0,50 mol de íons nitrato presentes, após 12 h de tratamento HT a 85 °C, apresentou-se como partículas

1 | Introdução

monodispersas com tamanho variando de 200 a 331 nm (**Tabela 1**), porém, acima desses valores, a distribuição unimodal era perdida.

Tabela 1 | Valores de raio hidrodinâmico médio (em nm) obtidos para o HDL de fórmula $[\text{Zn}_2\text{Al}(\text{OH})_6](\text{NO}_3)_y(\text{CO}_3)_{0,5(1-y)}\cdot x\text{H}_2\text{O}$ obtidos na literatura (SUN; DEY, 2015).

Composição do HDL, y	HT: 85 °C por 12 h	
	Fração Primária*	Fração Secundária
0,0	200	-
0,2	218,4	-
0,3	231,7	-
0,4	253,6	-
0,5	331,3	-
0,6	512	200
0,7	777,8	238,3
0,8	1009,3	282,9
0,9	-	-
1,0	-	-

*Fração primária é a fração que apresentou maior porcentagem de espalhamento de luz.

Para a fração que continha 0,70 mol de NO_3^- , após 12 h de tratamento hidrotérmico a 85 °C, observou-se a formação de duas fases cristalinas, cada uma correspondente a cada ânion da composição (não há menção, no artigo, de comportamento semelhante para as frações anteriores a essa; entretanto, os difratogramas de raios X não são apresentados). Além disso, a distribuição de tamanhos nesse caso foi bimodal, com populações em 777 e 238 nm, atribuídas a uma das populações, uma fase de HDL, devido ao crescimento diferenciado que as partículas apenas com nitrato apresentaram (elevado crescimento de partículas após longo intervalo de tempo de tratamento HT). Esse comportamento foi justificado devido à baixa estabilidade que os HDL cointercalados com íon nitrato e carbonato têm, em comparação com aqueles intercalados apenas com íon carbonato, de forma

1 | Introdução

que isso alteraria as taxas de dissolução e reprecipitação do material, interferindo em como as partículas crescem.

Todos os métodos relatados até aqui mostraram ser possível a obtenção de HDL em suspensão coloidal, caracterizados por uma rápida nucleação e controle do tamanho de partícula (envelhecimento) por meio do uso de tratamento hidrotérmico. Porém, em todos eles, estuda-se apenas a obtenção e o crescimento das partículas intercaladas com ânions inorgânicos. Como será mostrado a seguir, a intercalação de espécies orgânicas nos materiais preparados visando obtenção de nanopartículas é feita principalmente por troca iônica, na qual os HDL precursores são sintetizados utilizando o método descrito por Xu, doravante chamado de coprecipitação rápida (ou *flash*).

Um trabalho (GU et al., 2015) relatou o estudo da utilização de albumina como agente de recobrimento de HDL de Mg^{2+} e Al^{3+} intercalados com íons cloreto ou alguns fármacos (um anticoagulante e um agente anticâncer), visando aumentar a estabilidade coloidal das dispersões. O procedimento de intercalação consistiu em dispersar as nanopartículas de HDL intercalado com íon cloreto em solução desses fármacos e deixar sob agitação por 1 h. Os autores relataram que o procedimento de intercalação por troca iônica realizado levou à intercalação de apenas 10 % dos ânions presentes (para qualquer um dos fármacos utilizados), de forma que os difratogramas de raios X evidenciaram a existência de outras fases: uma fase HDL intercalada com cloreto e outra intercalada com fármaco, além da presença de picos

1 | Introdução

característicos da brucita e gibbsita. Apesar da baixa porcentagem de troca iônica efetuada, foi observado pequeno aumento do diâmetro hidrodinâmico. Em estudos de estabilidade em soluções salinas, foi observada elevada agregação das partículas de HDL (antes e depois da realização de troca-iônica) e, após procedimento de recobrimento com BSA (*bovine serum albumin*, albumina do soro bovino), tal agregação não foi observada.

Relatou-se (JOY et al., 2017), também, a síntese de HDL de Zn^{2+} e Al^{3+} na proporção 2:1 pelo método de coprecipitação rápida seguido de tratamento hidrotérmico para melhor dispersão das partículas. Realizou-se intercalação de diclofenaco (fármaco anti-inflamatório) pelo método de troca iônica, de forma que certa quantidade de HDL intercalado com íon Cl^- foi dispersada em solução do ânion e deixado em agitação por 72 h a 60 °C. As partículas sem ânion orgânico mostraram variação de 211 a 222 nm no diâmetro hidrodinâmico médio dependendo da temperatura de tratamento HT, sendo de 216 nm a 20 °C, enquanto, após intercalação do fármaco, esse tamanho passou para 350 nm.

Como observado, nem sempre o procedimento de troca iônica é eficiente para a intercalação dos ânions orgânicos desejados e, ainda que isso ocorra, é mediante elevado intervalo de tempo de troca que pode levar ao aumento do tamanho de partícula. Assim, faz sentido sugerir a síntese das partículas de HDL diretamente em solução básica do ânion que se deseja intercalar. Não só esse procedimento por coprecipitação rápida pode levar à intercalação em intervalo de tempo reduzido,

1 | Introdução

como se faz interessante o entendimento da influência do ânion orgânico na formação (nucleação) e no crescimento (envelhecimento) da partícula.

1.3 | Emulsões de Pickering

Emulsões de Pickering são emulsões em que o estabilizante de fase é uma partícula sólida em vez de um surfactante orgânico e, por isso, podem oferecer muitas vantagens frente às emulsões tradicionais (HARMAN et al., 2019). Elas foram primeiramente relatadas em 1903 por Ramsden (RAMSDEN, 1903), e retomadas em 1907 por Pickering (PICKERING, 1907), que descreveu o sistema de forma comparada a emulsões estabilizadas por sabão e com conclusões semelhantes às de Ramsden, porém alegou que não teve conhecimento de tais estudos até próximo do final da elaboração de sua própria pesquisa. Os dois pesquisadores, em seus estudos, discorrem, partindo de observações simples, sobre como a existência dessas emulsões é possível, por meio da adsorção do material sólido à gotícula da fase dispersa, e sobre a provável influência do tamanho da partícula sólida na estabilidade da emulsão. Hoje em dia, entende-se que, de fato, ambos os conceitos pensados estavam corretos e foram constantemente aprofundados.

A formação desses sistemas é possível devido à interação da superfície da partícula sólida tanto com a água (ou outra fase contínua) quanto com a fase oleosa (ou outra fase dispersa), isto é, é a adsorção da partícula na interface dos líquidos que gera a força motriz que mantém o sólido ancorado nas gotículas da fase dispersa e a emulsão estabilizada (CHEVALIER; BOLZINGER, 2013). O tipo de emulsão obtido,

1 | Introdução

água/óleo (w/o) ou óleo/água (o/w), pode ser determinado pelo grau de molhabilidade (do inglês, *wettability*) (MACHADO; DE FREITAS; WYPYCH, 2019) do material.

A molhabilidade de um material está relacionada com seu ângulo de contato, ou seja, o ângulo formado pela gota de um líquido em contato com uma superfície sólida, que depende de sua energia livre de superfície e varia até que o líquido se espalhe por completo (VICENTE; ANDRÉ; FERREIRA, 2012). Para a formação de emulsões do tipo o/w, o ângulo deve ser maior que 15 e menor que 90°, enquanto que para a obtenção de emulsões do tipo w/o deve ser maior que 90 e menor que 165° (XIAO; LI; HUANG, 2016). O caso em que o ângulo de contato é 90° é aquele que se tem a maior adesão da partícula às duas fases, considerando estabilização por partícula esférica (CHEVALIER; BOLZINGER, 2013), como demonstrado pela **Equação 4**, que indica a energia (E) necessária para remover a partícula que está adsorvida na interface desses líquidos (**Figura 6A**):

$$E = \pi R^2 \gamma_{ow} (1 + \cos\theta)^2 \quad (4)$$

onde R é o raio da partícula, γ_{ow} é a tensão interfacial o/w e θ é o ângulo de contato.

O mecanismo de estabilização das emulsões de Pickering, diferente da diminuição da tensão superficial gerada pelos surfactantes, consiste na formação de barreiras físicas que impedem a coalescência das gotículas; no caso de partículas carregadas, também ocorre estabilização extra devido à repulsão eletrostática gerada pelas cargas superficiais (CALABRESE et al., 2018). A formação de barreira física justifica sua preferência às emulsões tradicionais, uma vez que não apresenta

1 | Introdução

tensoativos em sua formulação, os efeitos adversos como irritação e citotoxicidade, por exemplo, causados por esses quando aplicados em emulsões para entrega de fármacos ou formulação em cosméticos, não seriam observados. Além disso, por apresentarem um tipo de barreira mais rígida, as emulsões de Pickering poderiam suportar condições de estresse mais severas e, portanto, seriam úteis, também, na aplicação em biomateriais (CHEVALIER; BOLZINGER, 2013).

Depois da obtenção do sistema emulsificado, faz-se necessário entender seu comportamento e estrutura. As principais técnicas para estudo da microestrutura são as microscopias (LOW et al., 2020). Em geral, a microscopia óptica é a primeira a ser realizada para verificar a formação da emulsão e, depois, técnicas mais potentes (microscopia confocal, de varredura ou de força atômica) são utilizadas para aprofundamento do entendimento do sistema, especialmente por meio da visualização da partícula na interface da gotícula.

As análises de estabilidade giram em torno do entendimento do comportamento dos sistemas a longo prazo, ou sob condições especiais (temperatura, estímulos externos ou diferentes forças gravitacionais), em relação à manutenção de sua estrutura inicial, isto é, as gotículas estabilizadas pelos materiais sólidos mantêm seu arranjo, sem a ocorrência de coalescência (aumento do tamanho da gotícula), formação de creme ou sedimento ou liberação da fase dispersa (destruição completa da estrutura inicial, causando separação de fases) (LOW et al., 2020). A forma mais simples utilizada para medir a estabilidade consiste em medir a variação do índice de

1 | Introdução

cremeação (C_i , **Equação 5** (XIAO; LI; HUANG, 2015)) ao longo do tempo, que é uma forma de entender a cinética da formação de fase creme (aglomeração das gotículas na região superior do frasco de estocagem). Para entender a cinética de coalescência, é necessário medir a variação do tamanho da gotícula ao longo do tempo.

$$C_i(\%) = \frac{H_c}{H_t} \cdot 100 \quad (5)$$

onde H_c é a altura da fase creme e H_t é a altura total do sistema.

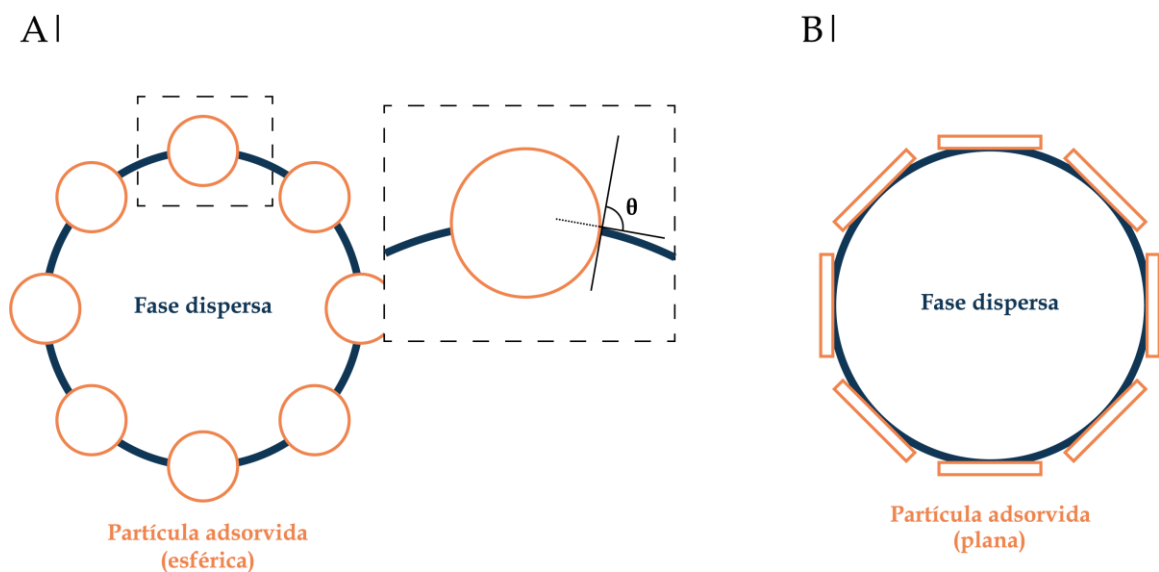


Figura 6 | Representação esquemática da estabilização de gotículas de fase dispersa. **A.** Estabilização por partículas esféricas, θ é o ângulo de contato; **B.** Estabilização por partículas planas. **Fonte:** **A.** Adaptado de (WU; MA, 2016); **B.** Adaptado de (MACHADO; DE FREITAS; WYPYCH, 2019).

Diversas partículas já foram estudadas para a obtenção de emulsões de Pickering tais como nanofibrilas de celulose (AAEN et al., 2019), nanotubos de caulinita (CAI et al., 2019), nanopartículas poliméricas (ZHANG et al., 2019) e até mesmo glúten do trigo utilizado em escala nanométrica para encapsular β -caroteno visando aumentar sua estabilidade e bioacessibilidade (FU et al., 2019). O formato das partículas utilizadas para estabilização interfere na estabilidade frente à coalescência das emulsões principalmente devido ao recobrimento diferenciado que

1 | Introdução

diferentes morfologias podem trazer (**Figura 6B**), alterando-se, por isso, a energia necessária para dessorção da partícula, como mostrado na **Equação 6** para partículas planas de espessura desprezível (MACHADO; DE FREITAS; WYPYCH, 2019) e na **Equação 7** para partículas em formato de bastão (LOW et al., 2020).

$$E = \pi R^2 \gamma_{ow} (1 - |\cos\theta|) \quad (6)$$

onde R é o raio da partícula plana.

$$E = \pi l q (1 - |\cos\theta|) \quad (7)$$

onde l é o comprimento e q a espessura da partícula tipo bastão.

Os HDL já foram estudados como estabilizantes de Pickering. Em geral, sua utilização leva à formação de emulsões do tipo óleo-água (YANG et al., 2006) e, para a formação de emulsões inversas, é necessário modificação na superfície que a torne mais hidrofóbica, como por exemplo a intercalação e/ou adsorção de moléculas orgânicas. Alguns estudos fundamentais no entendimento da influência do valor do pH, da força iônica e do método de emulsificação utilizado foram reportados e que são brevemente descritos a seguir.

Relata-se (YANG et al., 2006) a influência da força iônica na formação e na estabilidade das emulsões estabilizadas por HDL de Mg^{2+} e Al^{3+} intercalados com íon Cl^- . Eles verificaram que a presença de sal é fundamental para a obtenção desse tipo de sistema e argumentaram que isso ocorre devido à diminuição do potencial Zeta dessas partículas, permitindo que a repulsão que ocorreria devido ao empacotamento na superfície da gotícula fosse reduzida. Além disso, verificou-se que o aumento da concentração da dispersão utilizada como estabilizante influencia

1 | Introdução

na estabilidade das emulsões, assim como a quantidade de fase óleo presente.

Em outro trabalho (YANG et al., 2007), estudou-se a influência do valor do pH da dispersão de HDL para a obtenção e estabilidade de emulsões. Observou-se que o pH altera o comportamento de adsorção das partículas em uma interface parafina-água. Em valores elevados ($\text{pH} > 10,1$), observou-se a formação de uma camada bem organizada, devido ao controle das interações partícula-partícula e partícula-interface; caso o pH fosse muito elevado ($\text{pH} > 12,46$), a interação partícula-partícula se tornava muito elevada e elas se aglomeravam a ponto de coalescer. Por fim, o estudo também relatou que o aumento do pH diminui o tamanho das gotículas de emulsão formadas e ainda aumenta a estabilidade do sistema como um todo.

Há relatos (ZHANG; ZHANG; SUN, 2015) da influência do processo de emulsificação na estrutura, estabilidade e propriedades físico-químicas finais das emulsões estabilizadas com HDL intercalados com íon DS (dodecilsulfato). Os autores observaram que o preparo de emulsões utilizando agitação por vórtex levava a sistemas simples e de baixa estabilidade frente àquelas preparadas utilizando ultrassonificação (**Figura 7A**). Os sistemas obtidos utilizando tal método, além de apresentarem elevada estabilidade frente à cremeação, também apresentaram características gel, identificadas por meio de medidas reológicas. A estrutura do gel era dependente da concentração da dispersão de HDL intercalado com DS utilizada e tal propriedade foi atribuída à formação de uma rede contínua na qual algumas partículas serviam de ponte entre duas gotículas diferentes (**Figura 7B**).

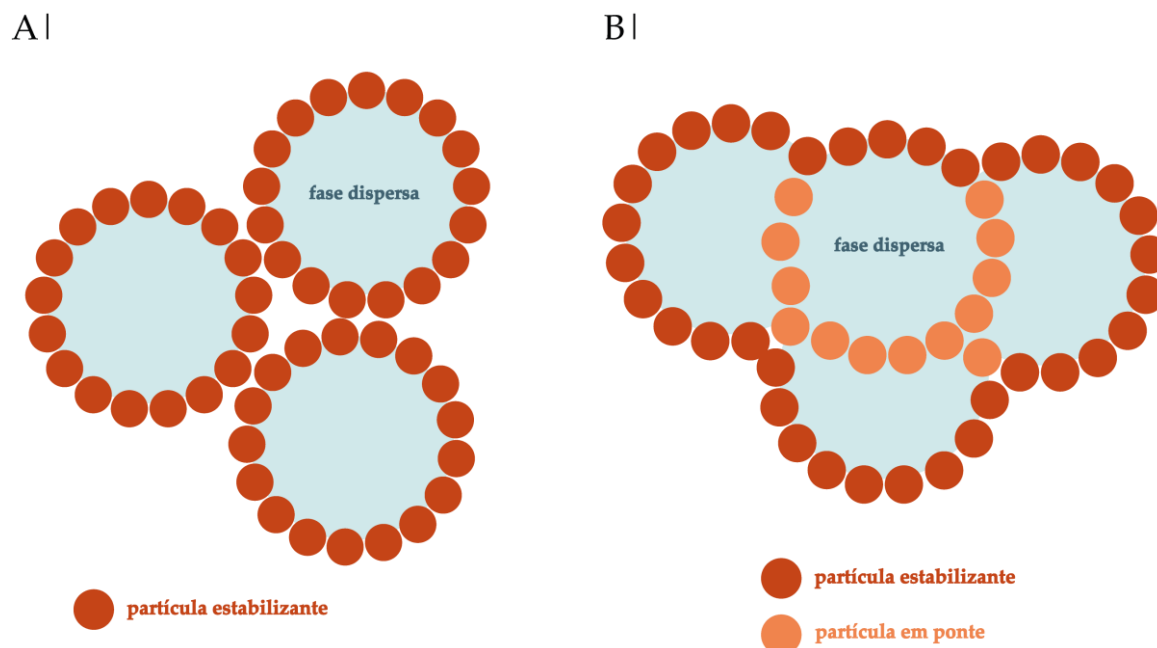


Figura 7| Representação esquemática das emulsões apresentadas. **A.** Emulsão simples – gotículas de fase dispersa próximas entre si; **B.** Emulsão com ligações em ponte – gotículas de fase dispersa unidas entre si por uma mesma partícula. **Fonte:** A e B adaptados de (LEE; CHAN; MOHRAZ, 2012).

No presente trabalho, buscou-se unir as propriedades naturais dos corantes derivados de urucum com a versatilidade dos HDL em busca de novos emulsificantes de Pickering. Assim, o sistema final apresentaria a estabilidade fornecida pelas partículas sólidas, as propriedades e coloração dos corantes, além de servirem como inspiração para estudos futuros.

2 | OBJETIVOS

Neste trabalho, objetivou-se, principalmente, a síntese e a caracterização de hidróxidos duplos lamelares contendo ânions de bixinato e norbixinato intercalados, obtidos e caracterizados de extrato comercial de urucum. Além disso, buscou-se estudar a influência de parâmetros de síntese ou procedimentos pós-síntese na distribuição de tamanho e estabilidade coloidal de HDL intercalado tanto com íon cloreto quanto orgânico, visando sua utilização como estabilizantes em emulsões de Pickering

Mais especificamente, pretendia-se:

- i. Isolar moléculas de bixina e norbixina de extratos comerciais e caracterizá-las utilizando HPLC-PDA (cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo), espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman, assim como propriedades térmicas por análises simultâneas acopladas (termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e análise de gás desprendido por espectrometria de massas (TG-DSC-MS));
- ii. Sintetizar e caracterizar, como descrito acima e em conjunto com a técnica de difratometria de raios X, HDL de zinco/alumínio, proporção molar 2:1, com íons cloreto, bixinato e norbixinato;

2| Objetivos

- iii. Adaptar e otimizar procedimento de síntese por coprecipitação rápida de HDL, visando distribuição uniforme de tamanho, pequeno tamanho médio e potencial Zeta adequado;
- iv. Utilizar as dispersões coloidais desses materiais como estabilizantes de Pickering e caracterizar as emulsões resultantes utilizando estabilidade visual, microscopias óptica e confocal e reologia.

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

Quando não especificados no próprio texto, as características dos reagentes utilizados neste trabalho estão descritas na **Tabela 2**, juntamente com suas fórmulas, procedência e grau de pureza.

Tabela 2 | Especificações dos reagentes utilizados na presente dissertação.

Reagente	Fórmula	Marca	Pureza (%)
Acetona	C_3H_6O	Synth	99,5
Ácido acético (99,7%)	CH_3COOH	Synth	
Ácido clorídrico (36,5-38%)	HCl	Synth	
Ácido nítrico (70%)	HNO_3	Synth	
Cloreto de Alumínio	$AlCl_3 \cdot 6H_2O$	Sigma-Aldrich	99
Cloreto de Zinco	$ZnCl_2$	Aldrich	98
Etanol	C_2H_5OH	Synth	95
Hidróxido de Sódio	$NaOH$	Merck	99
Metanol	CH_3OH	Synth	99,8
Nitrato de Prata	$AgNO_3$	Merck	99,8
Peróxido de Hidrogênio (36,5-38%)	H_2O_2	Synth	
Petrolato líquido	-	Nujol	99
Sílica gel	-	Merck	-

3.1 | Apocarotenoides Bixina e Norbixina

Os corantes bixina (HB_{xn}) e norbixina (H_2NB_{xn}) foram isolados e obtidos em sua forma sólida a partir de extratos disponíveis comercialmente, fornecidos pela empresa Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda. As especificações descritas a seguir foram retiradas das fichas técnicas enviadas com os extratos.

O extrato rico em bixina foi fornecido na forma de suspensão oleosa (código: A-8000-OSS), no qual o pigmento extraído da semente de urucum era veiculado em

3 | Materiais e Métodos

óleo de soja comestível. A concentração de HBxn era de 7,00 a 8,00 % (m/v) e sua densidade (a 20 °C) era $0,95 \pm 0,05 \text{ g mL}^{-1}$. Já o extrato rico em norbixina foi fornecido na forma de solução aquosa alcalina (código: A-1000-WS), no qual o corante foi extraído da semente de urucum pela utilização de solução de KOH (cuja concentração final era de 2,20 a 2,50 % (m/v)). A concentração de H₂Bxn era de 3,43 a 3,80 % (m/v) e sua densidade (a 20 °C) era $1,05 \pm 0,05 \text{ g mL}^{-1}$.

3.1.1 | Purificação

Para purificação de bixina a partir de extrato oleoso, realizou-se procedimento de recristalização em acetona, como segue (SCOTTER et al., 1994). Em 5 balões de fundo redondo, adicionou-se 10,00 g de extrato oleoso e 100,0 mL de acetona, que foram aquecidos até ebulição (50 °C), em sistema de refluxo, por 1 h. Depois, realizou-se filtração simples à quente, recolhendo todos os filtrados num mesmo frasco âmbar, que foi resfriado lentamente até temperatura ambiente e, por último, colocado em baixa temperatura (-4 °C) por 24 h. A HBxn sólida foi recolhida por filtração à pressão reduzida, utilizando papel de filtro para precipitados finíssimos (faixa azul), com secagem sob pressão reduzida.

A fim de aumentar o rendimento da purificação, e considerando a coloração vermelho escura tanto dos filtrados e quanto do sólido retido após filtração simples, realizou-se procedimentos sobre eles. Ao sólido retido da filtração simples, realizou-se dois procedimentos sucessivos de recristalização com acetona, semelhante ao descrito acima. Ao filtrado da filtração à pressão reduzida, realizou-se

3 | Materiais e Métodos

rotaevaporação e, após a obtenção de um resíduo viscoso e coloração semelhante à de uma solução oleosa de bixina, mais um procedimento de recristalização foi realizado.

Para a purificação de norbixina a partir de extrato alcalino, realizou-se procedimento de precipitação, como segue (PEROTTI et al., 2020). A 20,0 mL do extrato, adicionou-se 80,0 mL de água deionizada, realizou-se filtração à pressão reduzida, utilizando funil de placa sinterizada, para remoção de possíveis impurezas sólidas. Em seguida, gotejou-se, lentamente, 24,0 mL de solução de HCl 0,50 mol dm⁻³ sob agitação constante. Por fim, realizou-se filtração à pressão reduzida, com funil de Büchner e papel de filtro faixa azul, para recolher a norbixina sólida, que foi lavado com água deionizada gelada até que o filtrado testasse negativo para íons cloreto (teste com AgNO₃). O sólido foi seco em dessecador com sílica gel, à pressão reduzida, até obtenção de massa constante.

Os sais de sódio dos corantes, obtidos para auxiliar na caracterização dos compostos intercalados, foram obtidos pela reação com base forte em quantidade estequiométrica. Assim, 0,10 mmol de H₂NB_xn ou HB_xn foram neutralizadas, respectivamente, com 0,20 e 0,10 mmol de NaOH em um béquer de 50 mL com 25 mL de água deionizada. A solução final foi congelada e, posteriormente, liofilizada em Liofilizador Thermo Savant Modulyo D.

3.1.2 | Caracterização

Os corantes sólidos isolados tiveram sua composição qualitativa determinada por HPLC com detector por arranjo de diodo (HPLC-PDA, *High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array detection*). O procedimento para a preparação da amostra e sua posterior análise foi obtido na literatura (PEROTTI et al., 2020). A bixina e a norbixina foram dissolvidas em solução etanólica de ácido acético 2 % (v/v); o solvente de maior polaridade utilizado foi uma solução aquosa de ácido acético 2 % (v/v) e o de menor polaridade foi metanol, em eluição isocrática (razão polar:apolar igual a 1:9), com fluxo de 1,00 mL min⁻¹; todas as soluções utilizadas nessa etapa passaram por filtração em membrana filtrante com poros de 0,20 µm. A coluna utilizada para análise foi uma Coluna ODS Hypersil 250x4,6 mm, da Thermo Scientific, com temperatura ajustada para 30 °C. O comprimento de onda de monitoramento foi de 254 nm.

Em conjunto com a cromatografia, a fim de melhor caracterizar os corantes isolados, obteve-se os espectros na região do infravermelho em equipamento Cary 630 FTIR, da Agilent Technologies, com acessório de refletância total atenuada (ATR, *attenuated total reflection*). A obtenção dos espectros foi feita com 256 varreduras, no intervalo de 650 a 4000 cm⁻¹, em intervalos de 2 cm⁻¹. Também, obteve-se espectros Raman em equipamento FT-Raman Bruker modelo RFS 100/S, equipado com detector de germânio resfriado a 77 K com N₂ líquido, com laser de excitação em 1064

3 | Materiais e Métodos

nm (laser Nd³⁺/YAG), com 512 acumulações, resolução espectral de 2,0 cm⁻¹ e no intervalo de 50 a 4000 cm⁻¹.

O comportamento térmico dos corantes foi avaliado por análise térmica em equipamento TG-DSC Netzsch, modelo STA 409 PC Luxx, acoplado a um espectrômetro de massa QMS 403 Aelos, utilizando cadinho de alumina e atmosfera de ar sintético (fluxo 50 mL min⁻¹), no intervalo de 30 a 1000 °C, com rampa de aquecimento de 10 K min⁻¹. A massa utilizada dos compostos foi de aproximadamente 7,500 mg.

A fim de determinar as constantes de dissociação ácida (K_a) do corante norbixina, dissolveu-se 0,20 mmol de H₂NB_xn em 20,0 mL de água deionizada, deixando em agitação constante por 72 h. Depois desse período, realizou-se a titulação potenciométrica com adição de solução de NaOH 0,10 mol dm⁻³ em alíquotas de 10,0 ou 5,0 µL, a depender do grau de variação do valor do pH por adição, maior quantidade se a variação havia sido de 0,01 unidades de pH e a menor em casos de variação de 0,10.

3.2 | Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL)

3.2.1 | Coprecipitação lenta

Os HDL sintetizados foram de zinco e alumínio na proporção molar 2:1, conforme procedimento padrão no nosso laboratório (CUNHA et al., 2012; ROCHA et al., 2016) com algumas modificações. Sintetizou-se HDL intercalado com três ânions diferentes: íons cloreto (HDL_{Cl}), que serão utilizados como padrão de

3 | Materiais e Métodos

comparação, e íons bixinato (HDL_Bxn) e norbixinato (HDL_NBxn), provenientes dos corantes bixina e norbixina, respectivamente.

Para a síntese do HDL_Cl, 91,0 mL de uma solução 0,10 mol dm⁻³ de cátions Zn²⁺ e Al³⁺ (proporção molar 2:1) foram gotejados lentamente, sob agitação constante, em um balão de três bocas contendo 100,0 mL de água (suficiente para cobrir o eletrodo de pH); os íons Cl⁻ foram fornecidos pela dissolução dos sais dos cátions (ZnCl₂ e AlCl₃·6H₂O). O valor do pH da solução foi mantido em 7,50 com adição de solução de NaOH 0,20 mol dm⁻³ por meio de um titulador automático Quimis Q799-D2. Toda síntese foi realizada em atmosfera inerte de N₂. Ao final, o sólido foi recolhido por centrifugação (33963 rcf [força centrífuga relativa] por 5 min, em centrífuga Hermle Z36HK), lavado com água deionizada até teste negativo para cloreto (com AgNO₃) e, por último, uma lavagem com etanol para auxiliar na secagem. A secagem foi feita em dessecador à pressão reduzida, com sílica gel como agente secante.

Para a síntese de HDL_NBxn e HDL_Bxn, o procedimento foi semelhante ao da síntese citada acima, diferenciando-se apenas que a solução de cátions era gotejada lentamente, sob agitação constante, sobre uma solução aquosa de Na₂NBxn ou NaBxn, respectivamente. Mais detalhes sobre as diferenças em relação ao procedimento anterior serão descritos a seguir.

A solução de Na₂NBxn foi preparada pela dissolução de 0,54 mmol de H₂NBxn e 1,08 mmol de NaOH em 200 mL de água deionizada. Sobre ela, gotejou-se

3 | Materiais e Métodos

16,1 mL de solução de cátions $0,10 \text{ mol dm}^{-3}$ ($\text{Zn}^{2+}:\text{Al}^{3+}$ igual a 2:1). Já a solução de NaBxn foi preparada pela dissolução de 0,73 mmol de HBxn e 0,73 mmol de NaOH em 300 mL de água deionizada e, sobre ela, gotejou-se 21,7 mL da mesma solução de cátions. Em ambos os casos, a quantidade de solução de cátions adicionada visava manter a razão molar $\text{Al}^{3+}:\text{Anion}$ igual a 1.

3.2.2 | Coprecipitação rápida

Os HDL sintetizados pela coprecipitação rápida, visando obtenção de partículas de tamanho reduzido, também foram de zinco e alumínio, na razão molar 2:1, adaptando procedimento da literatura (XU et al., 2006). Preparou-se hidróxido duplo de cloreto (*HDL_flash_Cl*) e de norbixina (*HDL_flash_NBxn*). Nesse último, realizou-se variação de tratamentos pós-síntese a fim de se obter dispersão com pequeno tamanho de partícula e elevada estabilidade coloidal. As sínteses rápidas foram realizadas apenas com o corante norbixina, pois, como será discutido na Seção 4.1, o rendimento de sua purificação, em comparação com a bixina, foi mais elevado.

Para o *HDL_flash_Cl*, dissolveu-se, num béquer, 2,0 mmol de ZnCl_2 e 1,0 mmol de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 10,0 mL de água deionizada; em outro béquer, 6,0 mmol de NaOH foram dissolvidos em 40,0 mL de água deionizada, que sofreu purga de N_2 por 30 min. Sob agitação magnética branda, adicionou-se rapidamente (aproximadamente 5 s) a solução de cátions na solução básica, seguido de agitação por 10 min, em atmosfera de N_2 . Ambas as soluções foram colocadas em banho de gelo até atingirem $4 \text{ }^\circ\text{C}$. O sólido foi recolhido por centrifugação (33963 rcf por 5 min, em centrífuga

3 | Materiais e Métodos

Hermle Z36HK) e lavado cinco vezes com água deionizada. O sólido lavado foi dispersado em 25,0 mL de água, seguido de tratamento hidrotérmico (HT) em copo de Teflon® e carcaça de aço inoxidável por diferentes intervalos de tempo: 2, 4, 8, 12 e 16 h a 100 °C.

Para intercalação do corante orgânico, realizou-se a síntese como a supracitada, com a modificação que a solução de cátions foi adicionada em solução contendo o ânion orgânico e íons hidroxila. Assim, 2,0 mmol de $ZnCl_2$ e 1,0 mmol de $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ foram dissolvidos em 10,0 mL de água deionizada, e adicionadas rapidamente (aproximadamente 5 s), sob agitação magnética branda, em um béquer onde se dissolveu 1,0 mmol de H_2NBx_n e 8,0 mmol de NaOH (2,0 mmol suficientes para desprotonar o corante norbixina e 6,0 mmol suficientes para a formação da lamela do HDL). Ambas as soluções foram colocadas em banho de gelo até atingirem 4 °C. Esse sólido foi recolhido por centrifugação, lavado e dispersado em água deionizada para tratamentos pós-síntese: (i) hidrotérmico a 100 °C por 2 e 4 h e a 70 e 50 °C por 2 h; (ii) dispersão em ultrassom de ponteira Sonics Vibra-Cell™ com 750 W e 20 kHz, utilizando uma microponteira cônica de 6 mm vibrando em 30% da amplitude, por 30, 60 e 120 s.

Para as técnicas de caracterização que necessitavam desses materiais obtidos na forma de pó, descritas na seção a seguir, assim como para determinação de concentração das dispersões, realizou-se o isolamento por centrifugação (33963 rcf por 5 min, em centrífuga Hermle Z36HK), secos em dessecador à pressão reduzida e,

3 | Materiais e Métodos

quando necessário, pesados. Exceto se especificado, as caracterizações foram feitas nos materiais sem realização de tratamento pós-síntese.

3.2.3 | Caracterização

Os difratogramas de raios X dos materiais sintetizados, tanto pelo procedimento de coprecipitação rápida quanto de coprecipitação lenta, foram obtidos em um difratômetro Shimadzu XRD-7000, fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,518 \text{ \AA}$), tensão 40 mV e corrente 30 mA, utilizando-se o método do pó compactado, no qual a variação 2θ de $1,5$ a 70° , a 2° min^{-1} .

A razão molar de cátions dos sólidos sintetizados foi obtida pela técnica de espectrometria, em espectrômetro óptico de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), da marca Spectro e modelo Arcos. Os sólidos foram dissolvidos em meio com ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio.

Os materiais HDL_NBxn, HDL_Bxn e HDL_flash_NBxn tiveram seu teor de matéria orgânica determinada por análise elementar CHN em equipamento CHN Analyser Serie II, da marca Perkin Elmer. Tanto a análise de ICP quanto a análise elementar foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

A obtenção dos espectros vibracionais na região do infravermelho (IV e Raman) e o comportamento térmico dos materiais, por análise térmica, foi feita segundo descrito na Seção 3.1.2. Nessa última análise, a massa utilizada foi de aproximadamente 11,500 mg de sólido lamelar.

3 | Materiais e Métodos

A fim de verificar a distribuição de tamanho e a estabilidade coloidal dos materiais sintetizados por coprecipitação rápida, medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS, *Dinamic Light Scattering*) foram feitas em equipamento ZetaSizer Nano-ZS da Malvern, a 25 °C; essa técnica foi utilizada para a determinação do diâmetro hidrodinâmico e do potencial Zeta das partículas. Para a determinação do diâmetro hidrodinâmico, realizou-se diluição da dispersão de HDL de 1000 vezes em água deionizada, e para as medidas de potencial Zeta, 100 vezes.

A determinação do ângulo de contato triplo, útil para o entendimento da formação das emulsões de Pickering, foi feita em pastilhas dos materiais. Essas pastilhas foram obtidas pela compressão de 0,100 g de material em 5 Ton de pressão por 5 min. Depois, em um béquer de 5,0 mL, colocou-se uma dessas pastilhas sobre um calço, para facilitar sua visualização, e se preencheu a vidraria com óleo mineral Nujol®. Então, sobre a superfície da pastilha, adicionou-se uma gota de 10 µL de água deionizada. Depois de 5 min, para estabilização da gotícula na superfície do material, 10 imagens foram tiradas com câmera digital e tratadas digitalmente para determinação do ângulo de contato utilizando o *software* ImageJ. Essas medidas foram feitas em triplicata.

3.3 | Emulsões de Pickering

3.3.1 | Preparação

3.3.1.1 | Estudo do processo de emulsificação

Para o entendimento do processo de emulsificação, preparou-se emulsões de Pickering utilizando como estabilizante de fase tanto HDL intercalado com íons cloreto quanto norbixinato, ambos sintetizados utilizando método de coprecipitação rápida descrito na Seção 3.2.2. Nesse primeiro experimento, a concentração da dispersão de HDL_Cl em água foi de 0,35 % (m/m) enquanto a de HDL_NBxn foi de 0,69 % (m/m).

O primeiro método de emulsificação estudado foi o de homogeneização utilizando dispersor Ultra-Turrax (IKA® T18 *basic*). Em um tubo de ensaio de vidro com capacidade total igual a 20 mL, adicionou-se a fase óleo (petrolato líquido) e a dispersão de HDL nas proporções desejadas, a solução de NaCl de concentração adequada para manutenção da força iônica constante, e, depois, realizou-se a agitação do sistema a 11000 rpm por 90 s.

O segundo método de emulsificação estudado foi o de homogeneização utilizando ultrassom (Sonics Vibra-Cell™ 750 W 20 kHz) com acessório de ponteira (microponteira cônica de diâmetro igual a 6,5 mm). Assim como no primeiro método, todos os componentes para a formação da emulsão eram adicionados a um tubo de ensaio e, então, submetidos à homogeneização por ciclos de agitação (pulso *on* de 15 s) e descanso (pulso *off* de 5 s) até totalizar 90 s de mistura (ou seja, 6 ciclos de pulsos *on* e *off*, totalizando 120 s por emulsão preparada).

3 | Materiais e Métodos

Em ambos os casos, o volume total de emulsão foi de 5,00 mL, com diferentes valores de fração óleo (ϕ_o), a saber, 0,10 a 0,90, em intervalos de 0,10. O volume adicionado de solução de NaCl concentrada foi constante e igual a 0,100 mL, de forma que o volume total de fase aquosa era obtido com a adição da dispersão de HDL no volume restante necessário. Diferentes soluções concentradas de NaCl foram preparadas para que, após diluição, a fase aquosa utilizada na emulsão tivesse concentração final do eletrólito igual a 0,10 mol dm⁻³. Depois de preparadas, as emulsões foram transferidas para frascos de vidro de 5 mL, tampadas e deixadas em repouso para estudos de estabilidade e demais caracterizações.

3.3.1.2 | Estudo da influência da concentração de dispersão de HDL

Como será discutido na Seção 4.3.1, após determinação do melhor processo de emulsificação como sendo a ultrasonicação, buscou-se entender a influência da concentração da dispersão de HDL, e do ânion intercalado, na estabilidade e propriedade das emulsões. Para isso, dispersões de concentração 0,50, 1,00, 2,00 e 4,00 % (m/m) de HDL_Cl e de HDL_NBxn em água foram preparadas, por meio da diluição de dispersões mais concentradas (4,68 e 6,49 % (m/m), respectivamente), e utilizadas como fase aquosa no procedimento de ultrasonicação nas mesmas condições descritas na Seção 3.3.1.1.

3.3.2 | Caracterização

A estabilidade das emulsões frente à coalescência foi verificada de forma visual, por meio da determinação do índice de cremeação. Para isso, ao longo de

3 | Materiais e Métodos

diferentes intervalos de tempo (até 8 h após o preparo), realizava-se medidas de altura da fase emulsionada. O índice de cremação (C_i), definido como a razão entre a altura da fase emulsionada e a altura total, era, então, determinado (conforme demonstrado na **Equação 5**).

A influência da concentração das dispersões de HDL no tamanho das gotículas que compõe as emulsões foi determinada, de forma qualitativa, por meio da técnica de microscopia óptica (microscópio óptico binocular Coleman). Alíquotas de 10 μ L das emulsões foram diluídas 50 vezes, em água deionizada, e condicionadas em lâmina de microscópio. A fixação da amostra foi feita utilizando uma lamínula de 13 mm de espessura. Todas as lâminas foram preparadas imediatamente antes de sua visualização e as imagens foram obtidas por meio de câmera digital acoplada ao microscópio, em diferentes magnificações (4, 10 e 100 vezes, assim como em lâmina de imersão).

Com as emulsões preparadas que apresentaram caráter gel, determinadas pelo teste de inversão do frasco, após 8 h de repouso, realizou-se medidas reológicas, em busca de compreender a influência da concentração de HDL e do ânion intercalado em tal propriedade. As medidas foram feitas em reômetro Haake Mars III®, utilizando geometria cônica (C60/1), espaçamento de 0,052 mm e 1 mL de amostra. O ensaio realizado foi de oscilatório de amplitude, variando a tensão de cisalhamento de 0,01 a 50 Pa, com frequência de 1 Hz a 25 °C. Essas medidas foram feitas em colaboração com o grupo de Coloides e Superfícies, do Departamento de Físico-

3 | Materiais e Métodos

Química do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, sob coordenação do Prof^o Dr. Edvaldo Sabadini.

Medidas de microscopia confocal foram realizadas nas amostras de emulsão preparadas com maior concentração de partículas, para $\phi_0 = 0,40$. Foi utilizado um microscópio de varredura laser confocal Leica SP5, onde se empregou linha laser de 514 nm e uma objetiva HCS PL APO CS 10 x 0,4 DRY. O software utilizado foi LAS-AF (*Leica Application Suite Advanced Fluorescence*) e se utilizou, também, dois canais de tubos fotomultiplicadores (PMT, *photomultiplier tubes*) para detecção, a fim de permitir o monitoramento tanto da luz espalhada quanto da emitida. Para essas medidas, a fase óleo das emulsões foi colorida com corante vermelho do Nilo. Essas medidas foram feitas em colaboração com o Departamento de Físico-Química do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, com a colaboração do Prof^o Dr. René Nome.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 | Apocarotenoides Bixina e Norbixina

O extrato oleoso rico no corante bixina (HBxn) era laranja opaco, semelhante a uma tintura, e possuía elevada capacidade colorífica. Durante o procedimento de recristalização em acetona, tal característica opaca foi perdida, originando uma solução de coloração vermelha-escura. O sólido final obtido foi um pó fino, de coloração vermelho-amarronzada. O rendimento da primeira etapa de recristalização foi de 9,11 %, que, por ser reduzido, implicou a realização dos procedimentos de recristalização nos resíduos, como descrito na Seção 3.1.1, aumentando esse percentual para 19,04 %.

O principal motivo para o baixo rendimento do processo está na elevada solubilidade do corante em solventes orgânicos (SANTOS et al., 2014), tendo em vista que são usados em procedimentos industriais consolidados para a extração de bixina do pericarpo de sementes de urucum (SMITH; WALLIN, 2006). Dessa forma, a interação acetona-óleo, que seria responsável por facilitar a interação bixina-bixina (isolando o corante na forma sólida), compete com a interação acetona-bixina, que a dificulta, ou seja, mantém o corante dissolvido. Tais interações são chave para o entendimento do processo de tal forma que, mesmo depois da rotaevaporação, visando eliminar o composto mais volátil (acetona), ainda se verifica um resíduo oleoso vermelho-escuro.

4 | Resultados e Discussão

O extrato aquoso rico no corante norbixina (H_2NBx_n) possuía coloração vermelho-escura intensa, de tal forma que, mesmo após a diluição, nenhuma alteração foi observada. Ao ser filtrada em funil de placa sinterizada sob baixa pressão, verificou-se a formação de uma espuma alaranjada no filtrado que, ao longo do tempo, se desmanchou. Durante o processo de adição de solução de HCl, a solução de norbixina foi se tornando opaca, caracterizando formação de precipitado que foi recolhido por filtração. O sólido final, depois de lavado, possuía a mesma coloração vermelho-amarronzada da bixina e, depois de seco, se apresentou de forma compactada, porém fácil de ser pulverizado utilizando pistilo e almofariz. O rendimento do processo foi de 90,2 %.

A caracterização dos corantes sólidos obtidos se iniciou por cromatografia líquida de alta eficiência visando determinar, de forma qualitativa, a presença dos compostos desejados. A **Figura 8** mostra o perfil cromatográfico, juntamente com os espectros eletrônicos registrados em cada tempo de retenção, para os dois corantes isolados.

4 | Resultados e Discussão

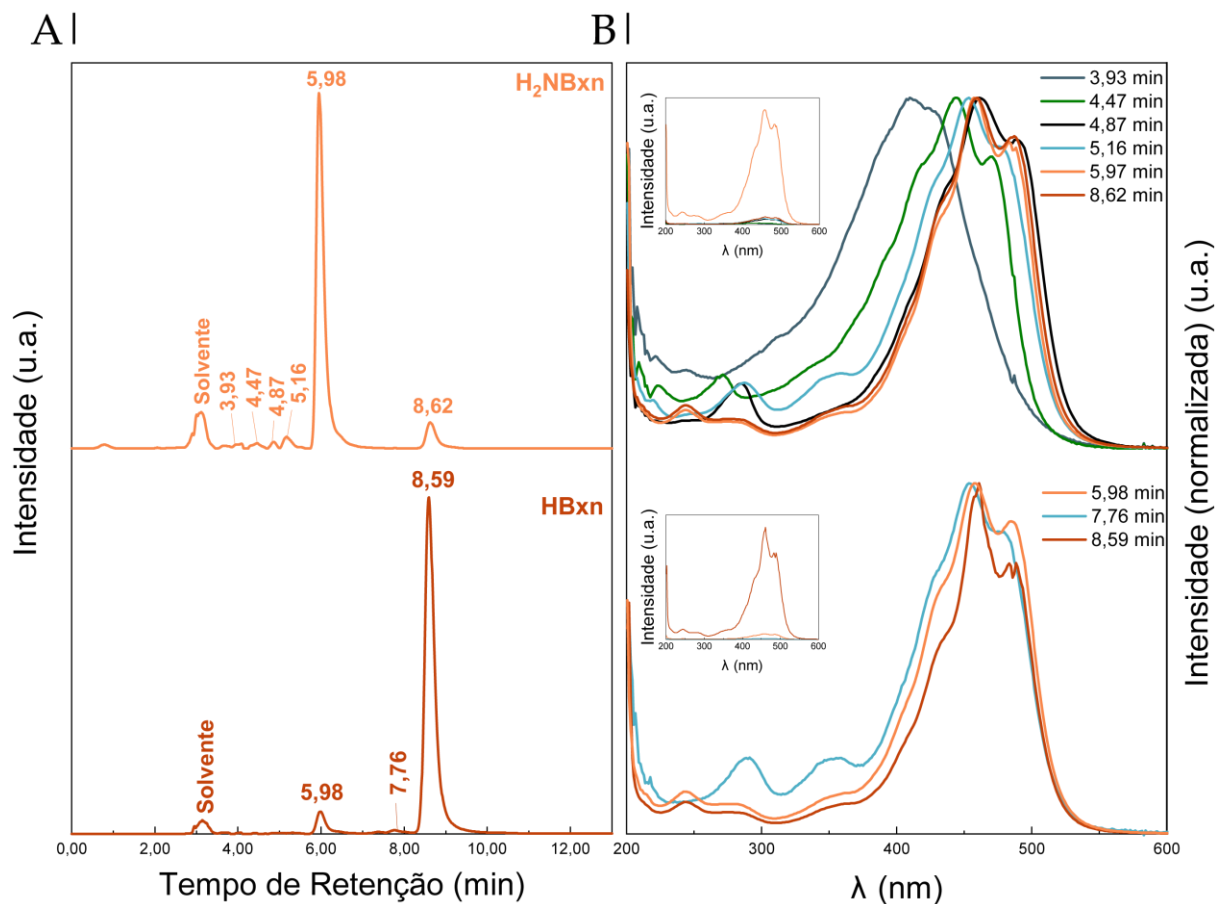


Figura 8 | Resultados obtidos após análise dos sólidos por HPLC-PDA. **A.** Cromatogramas para norbixina (superior) e bixina (inferior), com os respectivos tempos de retenção; **B.** Espectros eletrônicos no UV-Vis com intensidade normalizada para cada tempo de retenção apresentado, norbixina (superior) e bixina (inferior). Inserções mostram os mesmos espectros em escala não normalizada.

O cromatograma da H₂NBxn isolada mostra que ela é composta, pelo menos, por 5 compostos, além da espécie mais esperada (9'-*cis*-norbixina). Observando tanto a intensidade relativa entre o pico de maior intensidade e os outros, quanto a intensidade relativa entre os espectros eletrônicos não normalizados, é possível afirmar que a substância com tempo de retenção em $t = 5,98$ min é o que se apresenta em maior quantidade. Em relação ao cromatograma da HBxn isolada, vê-se que ela é formada por mais 2 compostos além de sua principal espécie (9'-*cis*-bixina) e, por motivo semelhante ao descrito para a norbixina, pode-se dizer que o componente

4| Resultados e Discussão

com tempo de retenção em $t = 8,59$ min está em maior quantidade. A possível identidade dos compostos que compõem as misturas, inferidas a partir dos espectros eletrônicos, está apresentada na **Tabela 3**.

Tabela 3| Possível identidade dos picos encontrados nos cromatogramas obtidos de acordo com os comprimentos de onda característicos de seus espectros. (SCOTTER et al., 1994; SCOTTER, 1995), (SCOTTER et al., 1998), (SCOTTER et al., 1994), (RIOS; BORSARELLI; MERCADANTE, 2005).

Tempo de retenção (min)	Cromatograma H ₂ NBxn			Cromatograma HBxn			Possível atribuição
	λ_1	λ_2	λ_3	λ_1	λ_2	λ_3	
	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	
3,93	409,87	-	-	-	-	-	C ₁₇
4,47	417,33	444,71	469,63	-	-	-	di- <i>cis</i> -norbixina
4,87	436,00	460,91	490,81	-	-	-	<i>trans</i> -norbixina
5,16	423,55	453,43	477,10	-	-	-	di- <i>cis</i> -norbixina
5,97	431,02	457,17	483,34	-	-	-	9'- <i>cis</i> -norbixina
5,98	-	-	-	431,02	458,41	484,58	
7,76	-	-	-	428,53	453,43	478,35	di- <i>cis</i> -bixina
8,59	-	-	-	432,26	460,91	483,34	9'- <i>cis</i> -bixina
8,62	432,26	459,66	487,08	-	-	-	

Legenda| Os números de onda (λ) numerados de 1 a 3 foram obtidos considerando a região entre 400 e 500 nm de cada espectro, iniciando-se a contagem a partir das bandas à esquerda. A distinção conformacional de isômeros di-*cis*-norbixina não foi possível de ser realizada.

A coloração característica dos apocarotenoides, tal qual seus precursores carotenoides, é consequência direta de sua estrutura de polieno conjugado (VAN TAMELEN, 1956). Assim, o espectro eletrônico desses compostos é caracterizado por ter intensa(s) banda(s) de absorção na região do visível, atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$, que podem servir como base para sua identificação e de seus isômeros (SCOTTER, 2009).

Dentro da literatura que se dedicou ao estudo dos espectros eletrônicos como ferramenta para identificar apocarotenoides presentes na semente (ou extrato) de

4 | Resultados e Discussão

urucum (RIOS; BORSARELLI; MERCADANTE, 2005; SCOTTER, 2009, 1995; SCOTTER et al., 1994, 1998; VAN TAMELEN, 1956), alguns termos e conceitos ficaram consolidados de forma a facilitar sua interpretação, descritos a seguir:

1. Os isômeros-*trans* (*all trans-isomer*) apresentam maior comprimento de onda de máxima de absorção (λ_{\max} ou λ_2 , na **Tabela 3**), quando comparado aos respectivos mono- e di-*cis*-isômeros, além de não apresentarem uma banda característica na região de 350-355 nm (região chamada de banda '*cis*', explicado abaixo);
2. Os isômeros-*cis* apresentam deslocamento das bandas para menores comprimentos de onda (hipsocrômico), em relação aos isômeros *all-trans*, e a extensão desse deslocamento depende do tipo de isômero considerado: mono-*cis*-isômeros apresentam deslocamento de 2-6 nm, enquanto para os di-*cis*-isômeros esse valor é de 13-17 nm. Além disso, o espectro eletrônico desses compostos é caracterizado pelo aparecimento da (supracitada) banda '*cis*', resultado da quebra de simetria que ocorre quando um isômero-*trans* simétrico (que possui centro de inversão, como no caso da norbixina) passa para alguma conformação *cis* (na que o centro de inversão é perdido) e a transição antes proibida por simetria passa a ser permitida;
3. Relações quantitativas costumam ser tomadas, por meio de parâmetros relativos, a fim de tornar a comparação mais direta, a saber: %Rel(n), onde

4 | Resultados e Discussão

$n = I$ ou III , que é a intensidade relativa percentual entre as intensidades encontradas em λ_1 e em λ_3 em relação a λ_2 (**Tabela 3**);

4. A $\%Rel(\text{banda-}'cis')$, que é a relação percentual entre a intensidade da banda-'*cis*' e a λ_{max} .

Considerando o descrito, pode-se atribuir o pico do cromatograma em $t = 4,87$ min para a *trans*-norbixina por possuir o maior λ_{max} e não apresentar a banda-'*cis*'. Assim, considerando o deslocamento de aproximadamente 3 nm para menor λ dos picos em $t = 5,97$ e 5,98 min, o aparecimento da banda-'*cis*' (350 e 351 nm, respectivamente, com $\%Rel(\text{banda-}'cis') = 10 \%$) e o fato de ser o pico de maior intensidade no cromatograma do sólido obtido a partir do extrato rico em norbixina, pode-se atribuir esses picos à **9'-*cis*-norbixina**. De raciocínio análogo, os picos em $t = 8,62$ e 8,59 min podem ser atribuídos à **9'-*cis*-bixina**, devido à existência da banda-'*cis*' em 356 nm, com $\%Rel(\text{banda-}'cis') = 8$ e 9 % e $\%Rel(III) = 80$ e 81 %, respectivamente.

Os picos em $t = 4,47$ e 5,16 min podem ser atribuídos a diferentes di-*cis*-norbixina, uma vez que o espectro eletrônico não é suficiente para dizer qual é a conformação específica. Tal atribuição para o pico em $t = 4,47$ é feita devido ao deslocamento de aproximadamente 16 nm do espectro para menores comprimentos de onda; já no caso para $t = 5,16$, há deslocamento hipsocrômico menor (aproximadamente 7 nm), porém a banda-'*cis*' está bem evidenciada (357 nm) e a $\%Rel(III) = 85 \%$ era esperada.

4 | Resultados e Discussão

Para o pico em $t = 7,76$ min, sugeriu-se identificação como di-*cis*-bixina devido ao espectro com bandas em mesmo comprimento de onda e intensidade relativa que o mesmo isômero da norbixina em $t = 5,16$ min. Uma vez que a bixina é o mono-éster da norbixina, a presença de um grupo metila faz com que tal molécula fique mais tempo retida na coluna cromatográfica, implicando 2,61 min de diferença entre seus tempos de retenção; para os isômeros citados, essa diferença é de 2,60 min. Quando procurado na literatura (RIOS; BORSARELLI; MERCADANTE, 2005), encontrou-se %Rel(I) semelhante, a saber, 21 % para o experimental e 25 % para o citado na referência, além dos perfis espectroscópicos (intensidades das bandas) serem parecidos quando consideradas as mudanças de solvente na análise cromatográfica.

Por fim, o pico em $t = 3,93$ min pode ser atribuído ao C₁₇, que é o éster monometílico do ácido 4,8-dimetil-tetradecahexanoico. Ele é um produto da degradação térmica da bixina, já encontrada em extratos de norbixina (SCOTTER et al., 1998), que possui coloração amarelada e espectro eletrônico com banda larga (e possíveis ombros) em torno de 400 nm, como observado.

Para continuar a caracterização estrutural dos corantes isolados, registrou-se espectros vibracionais na região do infravermelho, por meio da técnica FTIR-ATR e Raman. Esses espectros estão presentes na **Figura 9** e possuem bandas com seus respectivos número de onda, cuja tentativa de atribuição está presente na **Tabela 4**, para os espectros FTIR, e na **Tabela 5**, para os espectros Raman.

4 | Resultados e Discussão

Por serem moléculas de estrutura semelhante, seus perfis espectroscópicos são parecidos. Entretanto, observa-se diferenças tanto em relação à posição de bandas atribuídas aos mesmos modos vibracionais, quanto, no caso da bixina, no aparecimento de novas bandas. Dessas, é importante destacar aquela observada em 1763 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C=O do éster da molécula (RAHMALIA; FABRE; MOULOUNGUI, 2015). Sua relevância se dá devido a ser o grupo funcional difere o éster HBxn de seu ácido H₂NBxn, podendo servir, posteriormente, como diagnóstico de hidrólise (ou não) do éster durante o procedimento de intercalação, realizado em meio levemente básico.

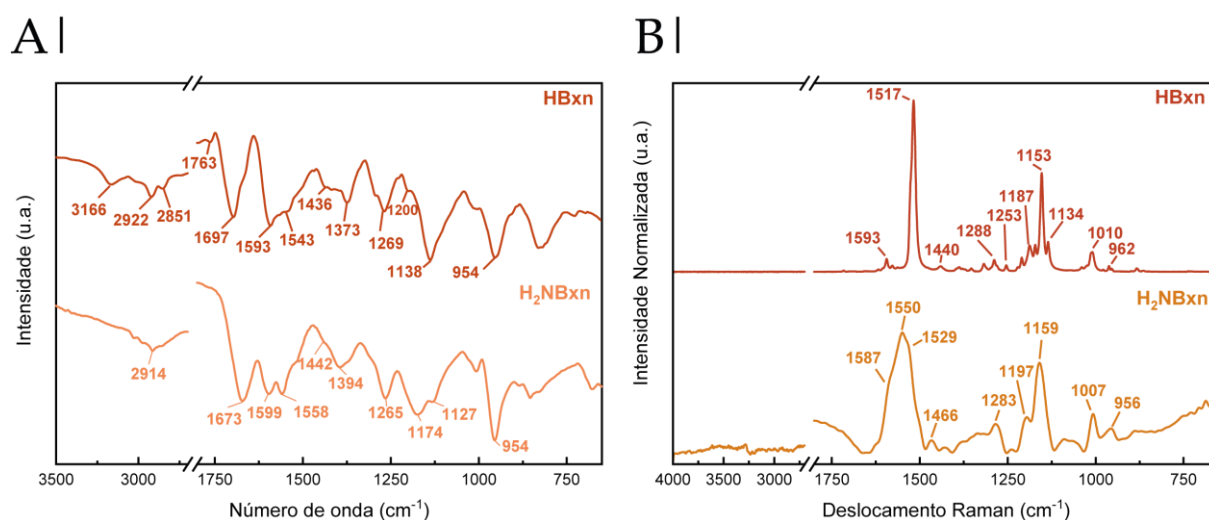


Figura 9 | Espectros vibracionais na região do infravermelho obtidos para os corantes isolados. **A.** Espectros FTIR-ATR; **B.** Espectros Raman.

Em relação às bandas presentes nos dois corantes, algumas delas merecem destaque. Aquela atribuída ao estiramento da ligação C=O do ácido carboxílico, na norbixina em 1673 cm^{-1} e na bixina em 1697 cm^{-1} , servirá como diagnóstico para a intercalação dos compostos, uma vez que essas espécies precisam estar em forma aniônica para que possam neutralizar a carga positiva da lamela, de forma que não

4 | Resultados e Discussão

devem estar presentes no espectro do sólido final. As bandas características do esqueleto hidrocarbônico das moléculas, a saber: a estrutura de polieno conjugado ($\nu(\text{C-H})$ e $\nu(\text{C=C})$) e os grupos metila ($\nu(\text{C}_{\text{sp}^3\text{-H}}$) e $\delta(\text{C}_{\text{sp}^3\text{-H}})$), apresentaram diferenças de um corante para outro, porém nenhuma tendência clara foi observada.

Em 954 cm^{-1} , observa-se uma banda atribuída à deformação de ligação C-H em carbono de hibridização sp^2 presente em igual intensidade nos dois espectros.

Tabela 4 | Atribuição das bandas destacadas nos espectros FTIR-ATR (**Figura 9A**) para os corantes isolados. (FONTINELE et al., 2018; PEROTTI et al., 2020); (LÓRÁND et al., 2002; RAHMALIA; FABRE; MOULOUGUI, 2015); (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Atribuição	H ₂ NB _x n	HB _x n
	Número de onda (cm ⁻¹)	
$\nu(\text{O-H})$	-	3166
$\nu(\text{C-H}) / \nu(\text{C}_{\text{sp}^3\text{-H}})$	2914	2922
	2851	2851
$\nu(\text{C=O})_{\text{éster}}$	-	1763
$\nu(\text{C=O})_{\text{ác. carboxílico}}$	1673	1697
$\nu(\text{C=C})$	1599	1593
	1558	1543
$\delta(\text{C}_{\text{sp}^3\text{-H}})$	1442	1436
	1394	1373
$\nu(\text{C-(C=O)-O})$	1265	1269
$\nu(\text{O-C-C})$	1174	1200
	1127	1138
$\delta(\text{C-H})$	954	954

Legenda: ν : estiramento; δ : dobramento.

Em relação aos espectros Raman, apesar de se observar diferença no perfil obtido para cada composto, onde, frente às bandas finas mostrada pela bixina, a norbixina apresentou bandas largas, observa-se que, também, os modos vibracionais atribuídos são semelhantes (**Tabela 5**). A literatura (DE OLIVEIRA et al., 1997) relata que a utilização de espectroscopia Raman para caracterização de carotenoides, assim

4| Resultados e Discussão

como de compostos derivados, é eficiente devido à presença de bandas em três regiões específicas, a saber: 1500-1550, atribuída ao estiramento C=C ($\nu(\text{C}=\text{C})$); 1150-1170, atribuída ao estiramento C-C ($\nu(\text{C}-\text{C})$); e 1000-1020, atribuída ao modo *rocking* de grupos $-\text{CH}_3$ ligados à cadeia principal (como é o caso da bixina e norbixina).

Tabela 5| Atribuição das bandas destacadas nos espectros Raman (**Figura 9B**) para os corantes isolados. (DE OLIVEIRA et al., 1997); (SCHULZ; BARANSKA; BARANSKI, 2005); (PEROTTI et al., 2020).

Atribuição	H ₂ NB _x n	HB _x n
	Deslocamento Raman (cm ⁻¹)	
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1587 (o)	1593
	1550	-
	1529 (o)	-
	-	1517
$\delta(\text{CH}_3)$	1466	-
	-	1440
$\beta(\text{C}=\text{H})$	1283	1288
	-	1253
	1197	-
	-	1187
$\nu(\text{C}-\text{C})$	1159	1153
	-	1134
$\rho(\text{CH}_3)$	1007	1010
$\omega(\text{CH}_3)$	956	962

Legenda: ν : estiramento; δ : dobramento; β : dobramento no plano; ρ : rotação (*rocking*); ω : balanço (*wagging*); (o): ombro.

As três regiões descritas acima apresentam bandas nos espectros Raman mostrados para a HB_xn e a H₂NB_xn. Aquelas bandas atribuídas aos modos *rocking* de $-\text{CH}_3$ e estiramento de ligação simples entre carbonos aparecem em deslocamentos semelhantes em ambos os corantes. Porém, observa-se uma mudança no que diz respeito às bandas atribuídas ao estiramento de ligações duplas entre os carbonos: a bixina apresenta essa banda (fina) centrada em 1517 cm⁻¹, enquanto a norbixina a apresenta centrada em 1550 cm⁻¹, porém larga, assimétrica e com ombros.

4 | Resultados e Discussão

Schulz, Baranska e Baranski (SCHULZ; BARANSKA; BARANSKI, 2005) estudaram carotenoides com diferentes tamanhos de esqueleto carbônico, grupos terminais e isomeria *cis-trans*, buscando entender quais eram os fatores que influenciavam a posição da banda característica do estiramento C=C. Ao final, os pesquisadores observaram que o número de insaturações na cadeia, o grupo terminal, a conformação do composto e seu ambiente químico a influenciavam.

Considerando as características estruturais entre os dois apocarotenoides estudados, pode-se sugerir, então, uma explicação para a diferença na posição da banda atribuída ao $\nu(\text{C}=\text{C})$. Como o número de insaturações e a isomeria para ambos os corantes é a mesma, resta, do ponto de vista estrutural, os grupos terminais. A bixina possui, em uma de suas extremidades, um grupo éster, diferente da norbixina, que é um diácido carboxílico, de forma que diferenças na posição da banda poderiam ser esperadas já previamente.

Além das características estruturais, e talvez até mais relevante, está a influência do ambiente químico no espectro de ambos os compostos. Conforme evidenciado pela análise de HPLC-PDA, verifica-se que o sólido de norbixina isolado era formado, além da 9'-*cis*-norbixina (composto esperado em maior quantidade), por isômeros estruturais e mesmo por bixina. Dessa forma, é possível dizer que a interação da norbixina com esses outros compostos pode ter deslocado a posição da banda de estiramento C=C, assim como esses outros compostos, ainda que em baixa quantidade, podem ter influenciado na largura da banda observada, já que

4 | Resultados e Discussão

diferenças tendem a deslocar tal banda poucas unidades de número de onda. A bixina, por outro lado, apresentava, além de 9'-*cis*-bixina, apenas um único isômero estrutural e a própria norbixina, de forma que o ambiente químico pode não ter sido alterado de forma tão expressiva.

O comportamento térmico dos corantes foi obtido por análise térmica. As curvas obtidas para a bixina estão na **Figura 10** e, para a norbixina, na **Figura 11**. Nelas, apresenta-se, também, as perdas de massas nos eventos possíveis de serem identificados com auxílio da curva DTG e as curvas MS correspondentes aos fragmentos com $m/z = 18,00$ (H_2O) e $44,00$ (CO_2), sendo m/z a razão massa/carga da espécie.

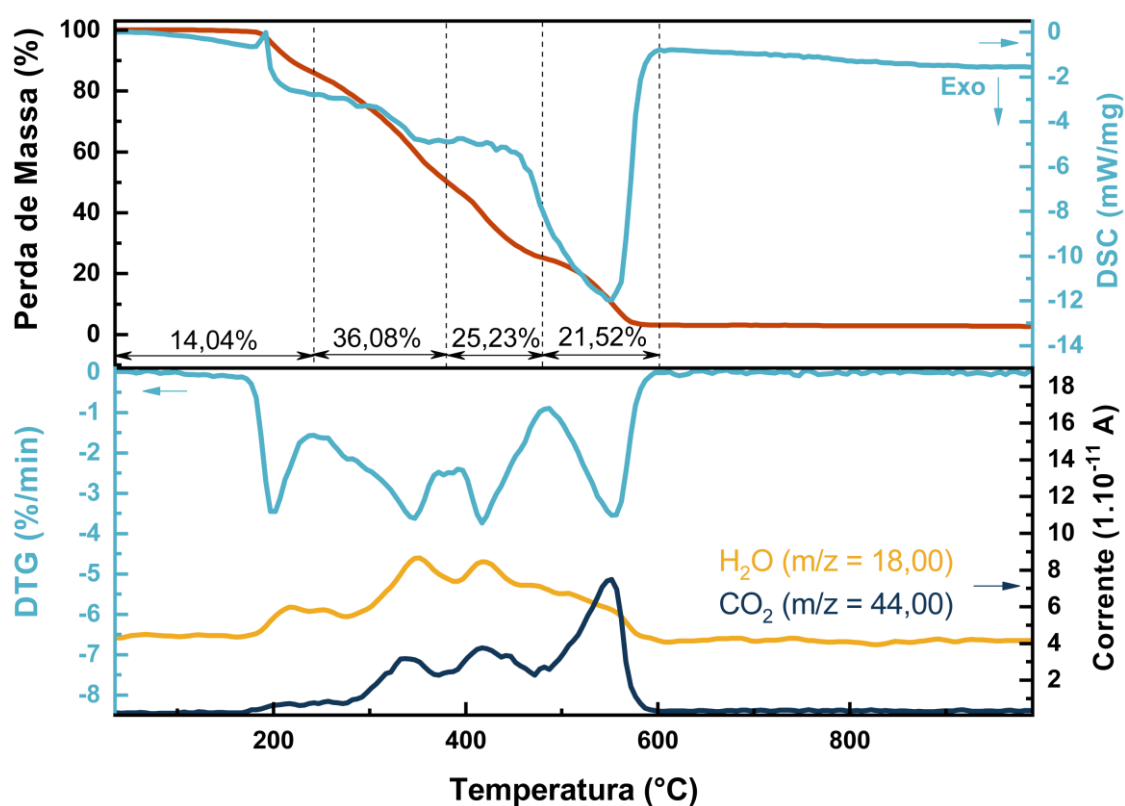


Figura 10 | Curvas TG-DSC (superior) e DTG-MS (inferior) obtidas para o corante bixina (HBxn).

4 | Resultados e Discussão

A HBxn apresenta 4 etapas de decomposição em atmosfera oxidante e, ao final (997 °C), apresentou 3,13 % de massa residual. A curva DSC apresenta, majoritariamente, processos exotérmicos, como esperado para uma combustão de composto orgânico, porém, em 191,9 °C, há um pico de característica endotérmica, que está próximo da temperatura de fusão relatada na literatura (189,5-190,5 °C) (REITH; GIELEN, 1971), além de coincidir com o início de sua decomposição. A investigação da degradação térmica da bixina em atmosfera inerte de N₂ (SILVA et al., 2005), em todas as taxas de aquecimento utilizadas no estudo, mostrou perfil termogravimétrico que apresentou, também, 4 etapas de decomposição, entretanto, deve-se destacar que o último evento relatado por eles terminava por volta de 800 °C, enquanto que nesse trabalho esse mesmo evento termina por volta de 600 °C, devido às diferentes atmosferas utilizadas. No estudo encontrado na literatura também não houve observação de massa residual.

De acordo com as curvas MS apresentadas, há perda constante de água ao longo de todo o intervalo de análise e as maiores intensidades observadas coincidem com as maiores intensidades presentes na curva de CO₂, coerente com a decomposição de composto orgânico em atmosfera oxidante que tem como produtos principais a água e o gás carbônico. Pode-se dizer que o início da decomposição da HBxn acontece em 166 °C, quando a quantidade detectada do fragmento característico do CO₂ começa a aumentar, característica que será relevante ao discutir a estabilidade obtida pelo corante após sua intercalação em matriz lamelar.

4 | Resultados e Discussão

A H_2NBx_n , por outro lado, apresentou 5 etapas de decomposição em atmosfera oxidante e, até $990\text{ }^\circ\text{C}$, a massa residual encontrada foi de $0,84\%$. A decomposição térmica da norbixina em atmosfera de N_2 (SILVA et al., 2007) mostrou que o perfil encontrado dependia da taxa de aquecimento utilizada. Com tal taxa sendo de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, eles obtiveram perfil térmico que apresentou 4 etapas de decomposição, com resíduo de aproximadamente $7,3\%$. Além disso, a última etapa de decomposição terminou por volta de $650\text{ }^\circ\text{C}$, enquanto na curva termogravimétrica da **Figura 11** tal temperatura foi de $560\text{ }^\circ\text{C}$.

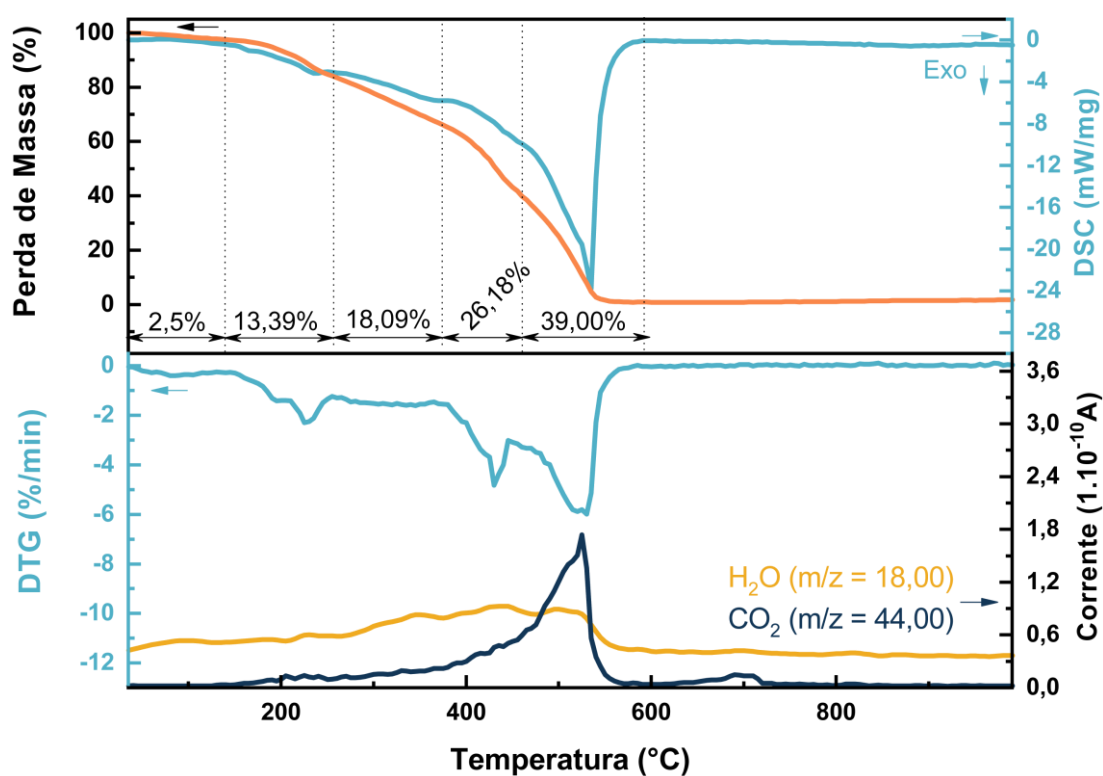


Figura 11 | Curvas TG-DSC (superior) e DTG-MS (inferior) obtidas para o corante norbixina (H_2NBx_n).

Como destacado para a bixina, a norbixina apresentou perda constante de água ao longo de toda a análise, porém os picos que poderiam coincidir com os vales da curva de DTG não foram observados de forma evidente, aparecendo apenas de

4 | Resultados e Discussão

forma alargada e próximos entre si. A norbixina se mostrou mais estável termicamente do que a bixina, uma vez que sua decomposição (aumento no nível de CO₂ detectado) começou por volta dos 180 °C.

4.2 | Hidróxidos Duplos Lamelares

Como descrito na Seção 3.2, de procedimentos experimentais, dois tipos de síntese diferentes foram realizados para a obtenção dos HDL intercalados tanto com íon inorgânico (cloreto) ou orgânico (bixinato ou norbixinato). Escolheu-se a realização dessas duas formas de obtenção visando, principalmente, comparações. Comparação estrutural, isto é, se a diferença entre os procedimentos geraria materiais de estrutura diferente, e quanto ao tamanho de partícula e sua estabilidade coloidal, que será abordado ao se discutir os materiais obtidos por coprecipitação rápida (Seção 4.2.2).

O procedimento de intercalação por coprecipitação (aqui chamado de coprecipitação lenta) é consolidado tanto no nosso laboratório quanto na literatura (CUNHA et al., 2016a; FIGUEIREDO et al., 2018; ROCHA et al., 2016), enquanto que o procedimento de coprecipitação rápida foi descrita para obtenção de HDL contendo íons simples, mas não para íons orgânicos. Por isso, os sólidos obtidos por coprecipitação lenta são os primeiros a serem descritos e caracterizados nesse trabalho e servirão como parâmetros de comparação para verificar a eficiência da síntese rápida na obtenção de HDL.

4.2.1 | Materiais obtidos por coprecipitação lenta

A síntese de HDL_Cl levou à obtenção de um sólido branco e finamente particulado, com rendimento de 80,3 %. Já os HDL_Bxn e HDL_NBxn mostraram coloração vermelho-amarronzada, semelhante à dos corantes obtidos na forma sólida. A intensidade dessa coloração variava dependendo do quão particulado estava o material. Por exemplo, após processo de maceração em almofariz e pistilo, ambos os materiais passaram a ter coloração mais alaranjada. O rendimento para HDL_Bxn foi de 87,4 % e para o HDL_NBxn foi de 60,4 %.

Os difratogramas de raios X que representam a estrutura cristalina desses materiais estão apresentados na **Figura 12**. Nela, há, também, a possível identidade dos planos cristalográficos que originaram os picos observados. O perfil cristalográfico obtido para o HDL_Cl condiz com o relatado na literatura (GIL et al., 2016) e a elevada intensidade dos picos de difração sugere elevada organização estrutural, que é característica desses materiais.

4| Resultados e Discussão

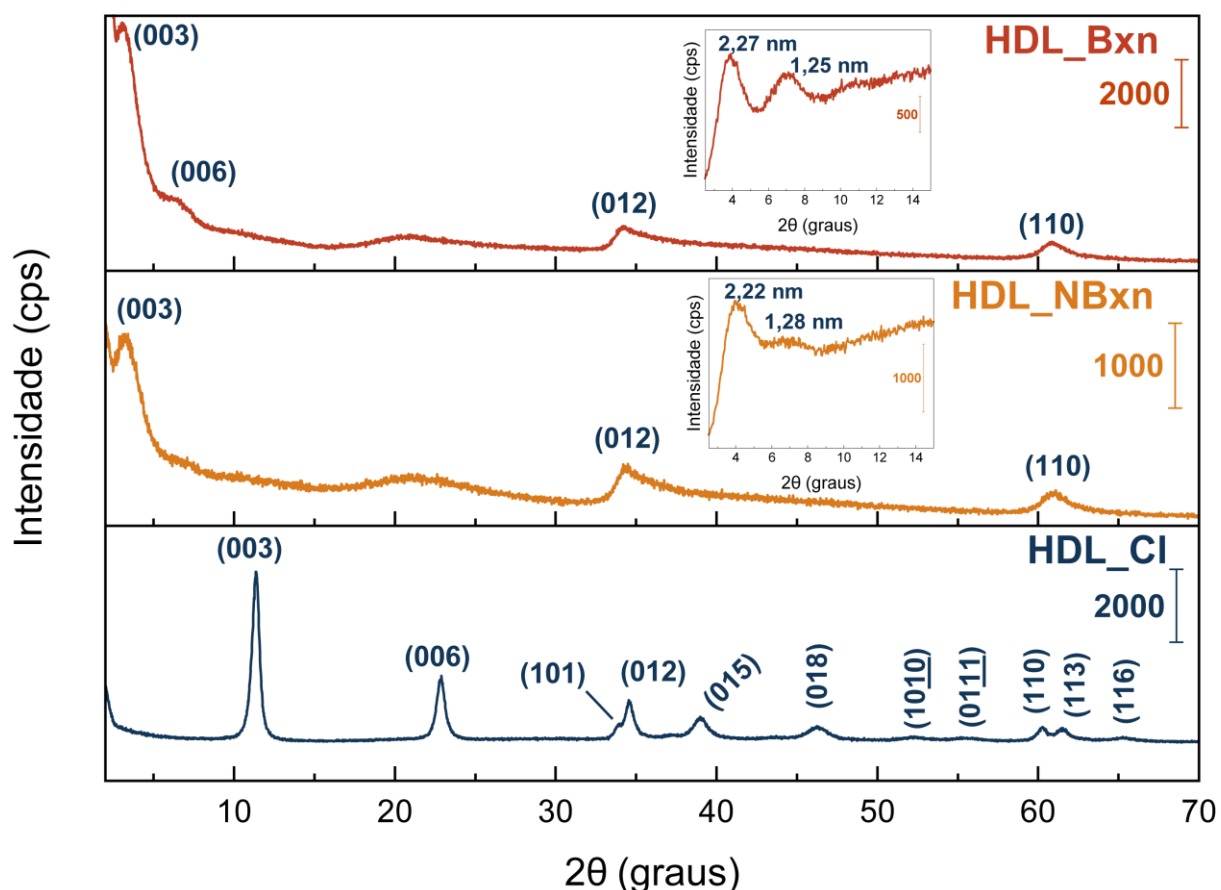


Figura 12| Difratomogramas de raios X obtidos pelo método do pó para os materiais sintetizados, juntamente com os planos (*hkl*) identificados. *Inserts* apresentados foram obtidos com menor intensidade de corrente para melhor visualização dos picos na região de baixo ângulo.

Nos HDL intercalados com íons orgânicos, observa-se o deslocamento do pico referente ao plano (003) para menores valores de 2θ , portanto maior distância interplanar, como pode ser visto na **Tabela 6**, o que sugere a intercalação desses ânions na matriz lamelar. Além disso, verifica-se que a maioria dos planos presentes no HDL_CI não estão presentes nos HDL_NBxn e HDL_Bxn, sugerindo desorganização causada, provavelmente, pela inserção de ânions orgânicos de cadeia carbônica longa. Ainda, na região entre 15 e 30° (2θ), observa-se um halo característico de formação de material com baixa organização estrutural.

4 | Resultados e Discussão

Os picos identificados como referentes aos planos (003) e (110) são característicos das estruturas lamelares porque se relacionam com os parâmetros cristalográficos em compostos tipo hidrotalcita pertencente ao grupo espacial R-3m (como os HDL) (ZHAO et al., 2002). O parâmetro \underline{a} é definido como duas vezes a distância interplanar do plano (110) ($\underline{a} = 2 \times d_{(110)}$), caracterizando a distância entre os centros metálicos; já o parâmetro \underline{c} é definido como três vezes a distância do plano (003), em politipo 3R ($\underline{c} = 3 \times d_{(003)}$).

Tabela 6 | Descrição dos planos de reflexão e distâncias interplanares calculadas utilizando a lei de Bragg para os hidróxidos duplos intercalados com íons cloreto, norbixinato e bixinato.

(hkl)	HDL_Cl		HDL_NBxn		HDL_Bxn	
	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{Å})$	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{Å})$	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{Å})$
(003)	11,4	7,78	3,98	22,2	3,90	22,7
(006)	22,9	3,88	6,89	12,8	7,05	12,5
(101)	34,0	2,64	-	-	-	-
(012)	34,5	2,60	34,3	2,61	34,2	2,62
(015)	39,0	2,31	-	-	-	-
(018)	46,2	1,96	-	-	-	-
(1010)	52,2	1,75	-	-	-	-
(1011)	55,5	1,66	-	-	-	-
(110)	60,3	1,54	60,9	1,52	60,8	1,52
(113)	61,5	1,51	-	-	-	-
(116)	65,3	1,43	-	-	-	-

Uma vez que as lamelas dos materiais são formadas pelos mesmos cátions (Zn^{2+} e Al^{3+}) e preparados com a mesma razão molar, então é esperado que o parâmetro \underline{a} seja o mesmo para todos os materiais, desde que eles mantenham a mesma proporção. De fato, para esse parâmetro, obteve-se valores iguais a 3,08, 3,04 e 3,04 Å para HDL_Cl, HDL_NBxn e HDL_Bxn, respectivamente, próximo do relatado na literatura para matrizes com $\text{Zn}^{2+}/\text{Al}^{3+} = 2$ (ROCHA et al., 2016). Já para o

4 | Resultados e Discussão

parâmetro c , obtém-se os valores de 23,3, 66,6 e 68,1 Å para HDL_Cl, HDL_NBxn e HDL_Bxn, respectivamente, o que sustenta a possibilidade de intercalação. Além disso, ressalta-se como a inserção da espécie orgânica na região interlamelar fez com que não se observasse o pico atribuído (no HDL_Cl) ao plano (113), já que o aumento da distância entre as lamelas no eixo c implicaria no deslocamento desse pico de difração para ângulos menores, de modo a se aproximar do pico (110), gerando um único pico. Tal fato sugere fortemente a formação de uma única fase de HDL intercalado com uma única espécie (norbixina ou bixina, neste trabalho).

Considerando que a lamela do HDL tem 4,769 Å de espessura (espessura da lamela do mineral brucita (MIYATA, 1975)), então, pela subtração desse valor nos espaçamentos basais ($d_{(003)}$), pode-se obter a distância entre as lamelas. No HDL_Cl, a distância entre as lamelas foi de 3,007 Å, próximo a valores já relatados (EULÁLIO, 2019).

Para o HDL_NBxn, a distância foi de 17,4 Å, e, como o tamanho calculado por modelagem molecular para a 9'-cis-norbixina é maior (24,4 Å de comprimento (PEROTTI et al., 2020)), pode-se sugerir que ela se organiza em monocamada com uma certa inclinação em relação à estrutura lamelar. Já para o HDL_Bxn, a distância encontrada foi de 17,9 Å e, embora não haja cálculos teóricos realizados para o tamanho da molécula de 9'-cis-bixina, sua diferença frente à 9'-cis-norbixina é a presença de um grupo $-CH_3$ em detrimento de um dos $-OH$ terminais, de forma que variação de tamanho esperada é de baixa magnitude. Assim, arranjo semelhante

4 | Resultados e Discussão

ao da norbixina pode ser sugerido. O grau de hidratação também poderia influenciar no espaçamento basal, porém, a análise térmica (apresentada adiante) sugere praticamente mesma quantidade de água em ambos os materiais.

A fim de verificar a integridade estrutural dos corantes depois de sua intercalação em matriz lamelar, registrou-se os espectros na região do infravermelho pela técnica FTIR-ATR, assim como os espectros Raman. Os resultados obtidos para essas análises estão na **Figura 13**, e uma possível atribuição está presente na **Tabela 7** para o FTIR-ATR e na **Tabela 8** para o Raman.

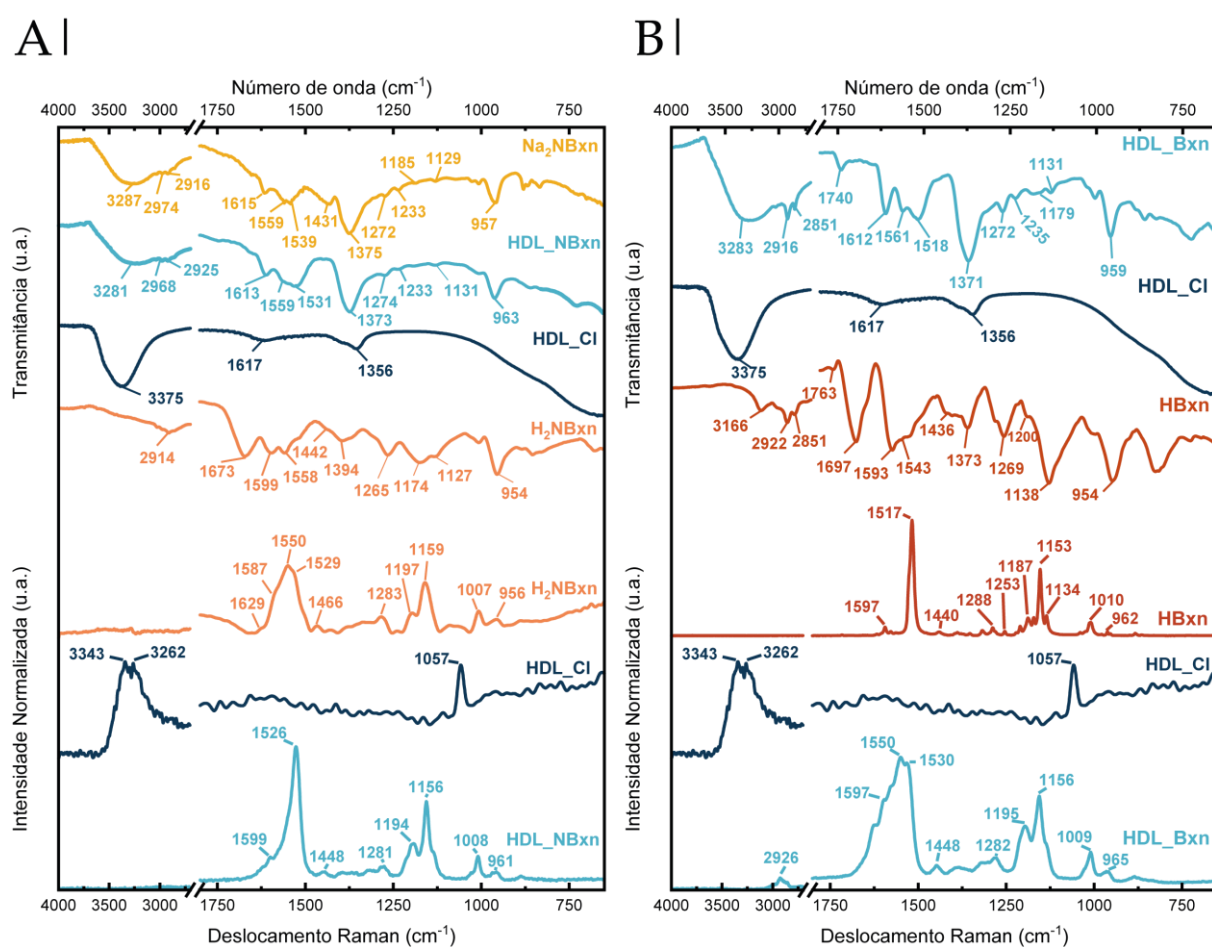


Figura 13 | Espectros vibracionais no infravermelho (superior) e espectros Raman (inferior), com números de onda em destaque de algumas bandas. **A.** Espectros para as espécies Na_2NBxn , HDL_NBxn , HDL_Cl e H_2NBxn **B.** Espectros para as espécies HDL_Bxn , HDL_Cl e HBxn .

4| Resultados e Discussão

O sal sódico de bixina não foi possível de ser obtido em forma sólida porque, depois do processo de liofilização por 3 dias da solução congelada desse sal, o que se obteve foi um líquido viscoso de aspecto oleoso. Não foi possível a obtenção de espectro Raman para o sal Na_2NBx_n devido à presença de fluorescência que interferia na visualização das bandas que poderiam ser observadas.

Tabela 7| Atribuição tentativa de bandas no espectro no infravermelho para os corantes, seus sais e os materiais sintetizados. (FONTINELE et al., 2018; PEROTTI et al., 2020); (LÓRÁND et al., 2002; RAHMALIA; FABRE; MOULOUGUI, 2015); (GIL et al., 2016); (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Atribuição	H_2NBx_n	Na_2NBx_n	HDL_NBx _n	HBx _n	HDL_Bx _n	HDL_Cl
	Número de onda (cm^{-1})					
$\nu(\text{O-H})$	-	3287	3281	3166	3283	3375
$\nu(=\text{C-H})$	2914	2974	2968	2922	2916	-
	2851	2916	2925	2851	2851	-
$\nu(\text{C=O})$ éster	-	-	-	1763	1740	-
$\nu(\text{C=O})$ ác.carboxílico	1673	-	-	1697	-	-
$\delta(\text{H}_2\text{O})$	-	1615	1613	-	1612	1617
$\nu(\text{C=C})$	1599	-	-	1597	-	-
$\nu_a(\text{COO}^-)$	-	1559	1559	-	1561	-
$\nu(\text{C=C})$	-	1539	-	1543	1518	-
$\delta(\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H})$	1442	1431	-	1436	-	-
	1394	-	-	1373	-	-
$\nu_a(\text{CO}_3^{2-})$	-	-	-	-	-	1356
$\nu_s(\text{COO}^-)$	-	1375	1373	-	1371	-
$\nu(\text{C-(C=O)-O})$	1265	1275	1274	1269	1272	-
	-	1233	1233	-	1235	-
$\nu(\text{O-C-C})$	1174	1185	-	1200	1179	-
	1127	1129	1131	1138	1131	-
$\delta(=\text{C-H})$	954	957	963	954	959	-

Legenda: ν : estiramento; δ : dobramento.

O espectro do HDL_Cl apresenta bandas atribuídas ao estiramento OH, em 3375 cm^{-1} , e à deformação angular de água adsorvida e/ou intercalada, em 1617 cm^{-1}

4 | Resultados e Discussão

(EULÁLIO, 2019). A banda em 1356 cm^{-1} foi atribuída ao modo vibracional de estiramento do íon carbonato, que pode aparecer adsorvido à superfície do HDL, proveniente do contato com o CO_2 presente no ar atmosférico ou dissolvido em água. A evidência que garante a adsorção do gás à partícula do material será retomada ao se discutir as análises térmicas dos HDL.

A atribuição do espectro vibracional de Na_2NBx_n e HDL_NBx_n foi feita considerando a atribuição feita para H_2NBx_n (PEROTTI et al., 2020); enquanto que a atribuição do HDL_Bx_n foi feita considerando a HBx_n . As espécies orgânicas, para interagirem com a lamela de modo eletrostático, precisam estar carregadas negativamente, isto é, aniônicas. Por isso, o desaparecimento da banda característica de ácido carboxílico e o aparecimento das bandas relacionadas aos estiramentos simétrico ($\nu_s(\text{COO}^-)$) e antissimétrico ($\nu_a(\text{COO}^-)$) do grupo carboxilato, tal como foi observado, era esperado.

No valor de pH de síntese (7,50), considerando os valores de pKa encontrados neste trabalho para a H_2NBx_n (**Figura A1**, no Anexo), há coexistência das espécies HNBx_n^- e NBx_n^{2-} . Porém, como mostrado na **Tabela 7**, não há evidência da existência de um grupo ainda protonado no sólido lamelar final. Assim, pode-se supor um mecanismo dinâmico de sua formação. Como o íon NBx_n^{2-} possui maior densidade de carga, conforme a lamela de HDL é formada, ele possui maior probabilidade de ser intercalado, diminuindo sua concentração no *bulk* da solução. Essa redução implica deslocamento do equilíbrio para sua formação, consumindo a espécie

4| Resultados e Discussão

HNBxn. Uma vez que esse procedimento é realizado de forma lenta, esse íon pode ser consumido praticamente por completo, intercalando apenas a espécie completamente desprotonada.

O HDL_NBxn apresentou a banda de estiramento simétrico do grupo —COO^- em 1373 cm^{-1} e de estiramento antissimétrico em 1559 cm^{-1} , valores próximos daqueles encontrados para o sal sódico (1375 e 1559 cm^{-1}). Essa proximidade de valores implica que a diferença entre eles (definida como $\Delta(\nu_a-\nu_s) = \nu_a(\text{COO}^-) - \nu_s(\text{COO}^-)$) é, também, próxima (184 cm^{-1} para o sal e 186 cm^{-1} para o HDL), sugerindo, portanto, interação com caráter iônico entre o íon norbixinato e a lamela do HDL (ZELEŇÁK; VARGOVÁ; GYÖRYOVÁ, 2007).

O HDL_Bxn apresenta bandas relacionadas aos modos vibracionais $\nu_s(\text{COO}^-)$ em 1371 cm^{-1} e $\nu_a(\text{COO}^-)$ em 1561 cm^{-1} . Como não foi possível isolar seu sal sódico, a mesma inferência relacionada ao HDL intercalado com íon norbixinato não pode ser feita. A banda atribuída ao estiramento da ligação C=O do éster da bixina se manteve presente, identificada em 1740 cm^{-1} , menor do que a molécula não intercalada, sugerindo que o ambiente básico de síntese, que poderia servir de catalisador para a hidrólise desse grupo (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012), não foi capaz de hidrolisar o éster.

A atribuição de bandas dos espectros Raman dos corantes não intercalados, discutidos na Seção 4.1, mostrou que os modos vibracionais observados se referem à estrutura da molécula, isto é, seu esqueleto de polieno conjugado e os ramificados.

4 | Resultados e Discussão

Assim, como o procedimento de intercalação é feito em condições que não são capazes de interferir nessas estruturas, esperava-se que os espectros Raman dos HDL sintetizados não apresentassem grandes diferenças no posicionamento das bandas observadas.

Tabela 8 | Atribuição tentativa de bandas no espectro Raman para os corantes e os materiais sintetizados. (DE OLIVEIRA et al., 1997); (SCHULZ; BARANSKA; BARANSKI, 2005); (PEROTTI et al., 2020); (ROCHA, 2015)

Atribuição	H ₂ NB _{xn}	HDL_NB _{xn}	HB _{xn}	HDL_B _{xn}	HDL_Cl
Deslocamento Raman (cm ⁻¹)					
v(O-H)	-	-	-	-	3343
	-	-	-	-	3262
v(C-H)	-	-	-	2926	-
	1587 (o)	1599	1593	1597 (o)	-
	1550	-	-	1550	-
v(C=C)	1529 (o)	1526	-	1530 (o)	-
	-	-	1517	-	-
δ(CH ₃)	1466	-	-	-	-
	-	1448	1440	1448	-
	1283	1281	1288	1282	-
	-	-	1253	-	-
β(=C-H)	1197	1194	-	1195	-
	-	-	1187	-	-
	1159	1156	1153	1156	-
v(C-C)	-	-	1134	-	-
vs(CO ₃ ²⁻)	-	-	-	-	1057
ρ(CH ₃)	1007	1008	1010	1009	-
ω(CH ₃)	956	961	962	965	-

Legenda: v: estiramento; v_s: estiramento simétrico; δ: dobramento; β: dobramento no plano; ρ: rotação (*rocking*); ω: balanço (*wagging*); (o): ombro.

De fato, ao se consultar as possíveis atribuições descritas na **Tabela 8**, verifica-se a presença de bandas atribuídas aos estiramentos C=C, C-C e do grupo metil, a saber: 1526 (v(C=C)), 1156 (v(C-C)), 1008 (ρ(CH₃)) e 961 cm⁻¹ (ω(CH₃)), para o HDL_NB_{xn}, enquanto que para o HDL_B_{xn} esses modos aparecem em 1550, 1156, 1009 e 965 cm⁻¹.

4 | Resultados e Discussão

Das diferenças entre os espectros do corante e ele após sua intercalação, merece destaque aquelas observadas no espectro do HDL_Bxn. Nele, observa-se a presença tanto de bandas alargadas quanto de ombros, características não apresentadas no espectro da HBxn. Assim como se discutiu essa característica para o espectro da H₂NBxn, onde se sugeriu a influência do ambiente químico no espectro, aqui o mesmo pode ser feito. Uma vez que o ânion de bixinato está confinado na região interlamelar, em uma determinada direção, diferentes interações intermoleculares podem estar acontecendo que implicam alargamento das bandas.

Em relação ao espectro Raman do HDL_Cl, destaca-se a presença de uma banda de pequena intensidade em 1057 cm⁻¹, atribuída ao modo de estiramento simétrico do íon CO₃²⁻. Em estudo do comportamento térmico de HDL intercalados com carboximetilcelulose (MAGRI et al., 2019), observou-se que em HDL de Zn²⁺ e Al³⁺, na proporção 2:1 (como no presente estudo), intercalados com íon carbonato, a intensidade da banda em 1060 cm⁻¹ (atribuída ao intercalante carbonato) era predominante no espectro Raman desses materiais. Aqui, tal como foi feito na discussão do espectro FTIR-ATR desses materiais, devido à baixa intensidade da banda, sugere-se apenas adsorção de espécies carbonatadas na superfície dos materiais. A seguir, na discussão dos resultados de análise térmica dos materiais, mais evidências da possibilidade de adsorção são discutidas.

O comportamento térmico do HDL_Cl sintetizado está apresentado na **Figura 14**. Observa-se a ocorrência de quatro eventos de decomposição térmica, nos quais há

4 | Resultados e Discussão

liberação majoritária do fragmento $m/z = 18,00$, atribuído à água. No primeiro evento, com início por volta de 72 °C (pico DTG em 127 °C), acontece a desidratação, com a liberação das moléculas de água que estavam adsorvidas na superfície da partícula. Juntamente a essa eliminação de moléculas de H₂O, nota-se que há liberação de uma pequena quantidade de CO₂, o que sustenta a afirmação feita anteriormente que havia íons carbonato adsorvidos à superfície da partícula. Íons carbonato, se intercalados, são liberados em dois eventos, que ocorrem por volta de 600 e 750 °C (MAGRI et al., 2019).

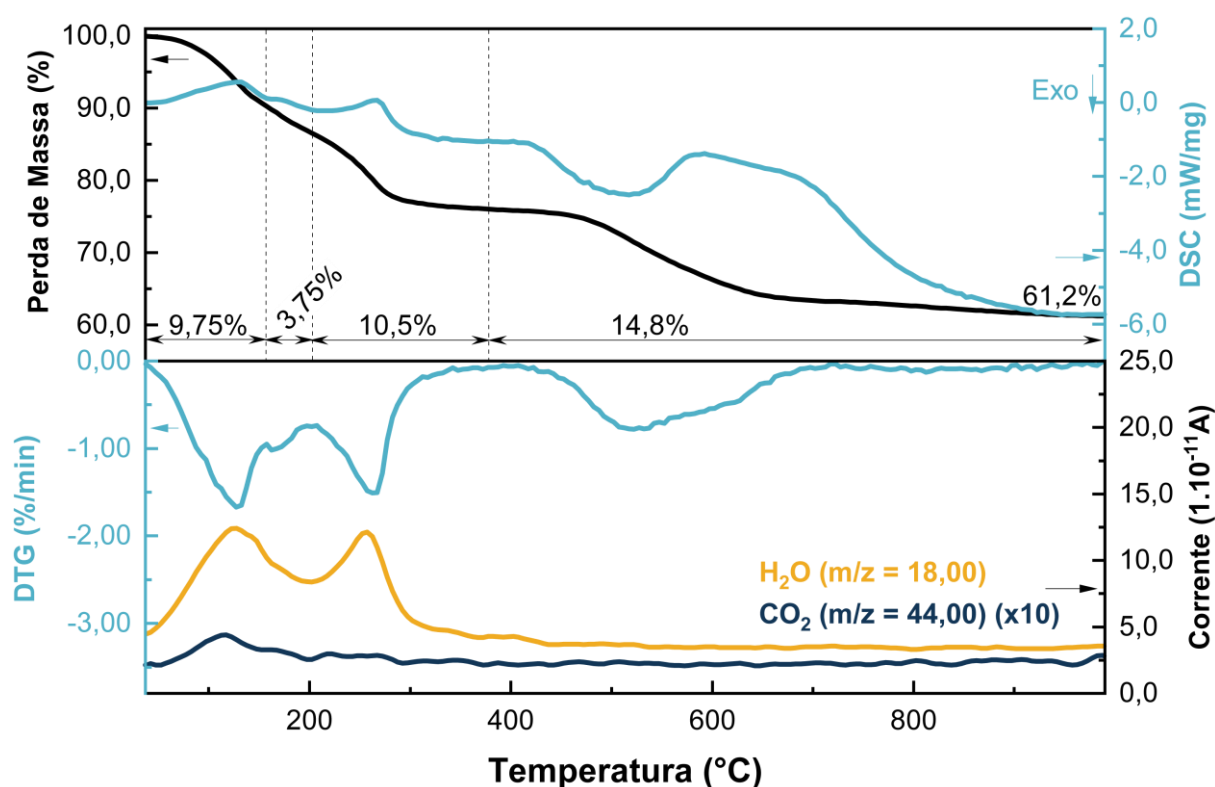


Figura 14 | Curvas TG-DSC (superior) e DTG-MS (inferior) para a amostra HDL_Cl.

O segundo (que se dá muito próximo ao primeiro) e o terceiro eventos se iniciam por volta de 157 (pico DTG em 172 °C) e 202 °C (pico DTG em 262 °C) e são responsáveis pela liberação de água gerada pela desidroxilação das lamelas do HDL. O quarto evento, que se inicia por volta de 412 °C (pico DTG em 522 °C), de

4| Resultados e Discussão

característica exotérmica, apresenta perda de 14,8 % de massa. Nele, seria possível esperar a liberação de HCl (CUNHA et al., 2016b), porém tal fragmento não foi observado em intensidade significativa neste trabalho. A massa residual final de 61,2 % é, provavelmente, uma mistura de ZnO e ZnAl₂O₄, gerados da decomposição térmica do HDL, conforme já relatado na literatura (ZHAO et al., 2010).

A **Figura 15** apresenta o comportamento térmico do HDL_NBxn, comparando-o com seu sal sódico e a norbixina não intercalada. A fim de auxiliar na discussão, apresenta-se, de forma separada, os perfis de gases evoluídos identificados ao longo da análise, como demonstrado para o HDL_Cl. Já a **Tabela 9** sintetiza o intervalo de temperatura, juntamente com a perda de massa, em cada evento observado para a decomposição térmica de tais compostos.

O HDL intercalado com íon norbixinato foi o que apresentou menor número de etapas de decomposição térmica, enquanto o sal sódio foi o que apresentou o maior. Os dois eventos iniciais de perda de água para o HDL_NBxn, que se iniciam por volta de 65 (pico DTG em 91 °C (**Figura A2**, em anexo)) e 160 °C (pico DTG em 197 °C (**Figura A2**, em anexo)), condizem com a desidratação e a desidroxilação da lamela de HDL, respectivamente, como observado para o HDL_Cl e discutido anteriormente.

4| Resultados e Discussão

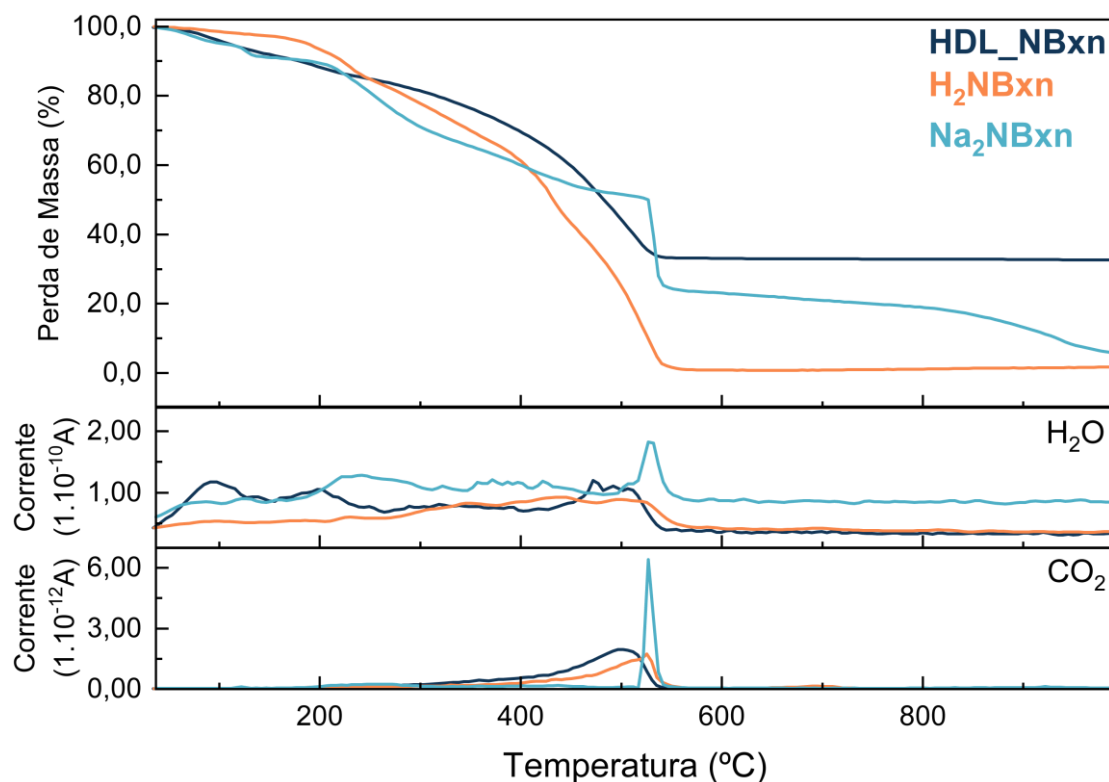


Figura 15 | Curvas TG (superior) e MS (inferior) dividido em H₂O ($m/z = 18,00$) e CO₂ ($m/z = 44,00$) para Na₂NBxn, HDL_NBxn e H₂NBxn.

Em relação ao terceiro evento, observa-se que ele compreende uma faixa de temperatura abrangente e é o responsável pela maior perda de massa observada. Nesse evento, há liberação concomitante de CO₂ e H₂O, atingindo pico por volta de 500 °C. O início da liberação de gás carbônico, entendido como o início da decomposição do corante intercalado, acontece por volta de 228 °C, temperatura maior que a da norbixina em sua forma ácida (118 °C), sugerindo, portanto, sua maior estabilidade térmica depois de intercalado. Isso acontece devido à lamela do HDL servir como barreira para a difusão de oxigênio da atmosfera de análise, de forma que há maior lentidão até que a degradação oxidativa ocorra. Ao final, a massa residual, tal como atribuída para o HDL intercalado com íon cloreto, pode ser

4| Resultados e Discussão

atribuída à formação de uma mistura de óxido de zinco e espinélio de zinco e alumínio.

Tabela 9| Detalhamento dos intervalos de temperatura em que se observou redução de massa dos compostos H_2NBx_n , Na_2NBx_n e HDL_NBx_n . Valores obtidos das curvas termogravimétricas apresentadas na **Figura 15**.

H_2NBx_n		Na_2NBx_n		HDL_NBx_n	
Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)
37-140	2,50	37-102	4,89	65-160	8,40
140-255	13,4	102-172	4,51	160-244	6,41
255-375	18,1	172-357	25,8	244-570	52,0
375-460	26,2	357-482	12,5	-	-
460-600	39,0	482-707	31,5	-	-
-	-	707-992	14,8	-	-
Resíduo	0,80	Resíduo	6,00	Resíduo	33,2

No caso do sal Na_2NBx_n , observa-se perda constante de água ao longo de todo o intervalo analisado, enquanto a liberação de CO_2 acontece praticamente em uma única etapa, em 516 °C. Dessa forma, o sal sódico do corante norbixina apresenta maior estabilidade frente à decomposição térmica quando comparado à sua forma ácida e quando intercalado. Provavelmente, isso se deve ao caráter predominante iônico da interação existente entre o ânion norbixinato e o cátion Na^+ . Tal fato sugere, também, que a interação entre a lamela e esse ânion, apesar de apresentar tal caráter iônico, como sugerido pela interpretação do espectro na região do infravermelho, não acontece na mesma intensidade que em seu sal, além disso, o arranjo da cadeia carbônica conjugada deve ser diferenciado no sal: as interações intermoleculares

4 | Resultados e Discussão

podem ocorrer em maior quantidade (ou de forma mais eficiente) que quando comparada ao arranjo obtido na região interlamelar.

Esse evento de decomposição único do norbixinato de sódio não é esperado considerando o perfil observado para o corante norbixina. A perda constante de água, que gera a maior parte da perda de massa até aproximadamente 500 °C, porém sem liberação de CO₂, sugere que não há combustão propriamente dita do sal. O estudo da decomposição térmica do oxalato de sódio em atmosfera inerte de N₂ (GARCIA-GUINEA et al., 2011) mostra que esse composto também apresenta um evento único de liberação de CO (atmosfera não oxidante) na região de 500 °C e de H₂O por todo intervalo de medição. Aqui, como o sólido caracterizado por FTIR-ATR apresentou bandas condizentes com a estrutura de polieno conjugado da norbixina, sugere-se que o aquecimento, durante a análise térmica, pode ter levado a uma conversão do norbixinato em oxalato de sódio, que se decompõe para Na₂CO₃.

A **Figura 16** e a **Tabela 10** apresentam as curvas TG e os fragmentos identificados por espectrometria de massa, permitindo verificar o comportamento térmico do HDL_Bxn sintetizado e do corante não intercalado, e o detalhamento dos intervalos de temperatura para cada evento observado, respectivamente.

O HDL_Bxn apresentou, assim como o HDL_NBxn, três eventos de perda de massa e mesma massa residual, cuja composição deve ser semelhante. Os dois primeiros eventos, de desidratação e desidroxilação, respectivamente, iniciaram por volta de 64 °C (pico DTG em 91 °C (**Figura A3**, em anexo)) e 155 °C (pico DTG em 197

4| Resultados e Discussão

°C (**Figura A3**, em anexo)). Já o terceiro evento, em que há liberação concomitante de água e gás carbônico, se inicia por volta de 187 °C (pico DTG em 511 °C (**Figura A3**, em anexo)), mostrando que a intercalação da bixina em matriz lamelar levou ao aumento de sua estabilidade térmica, por mecanismo descrito anteriormente.

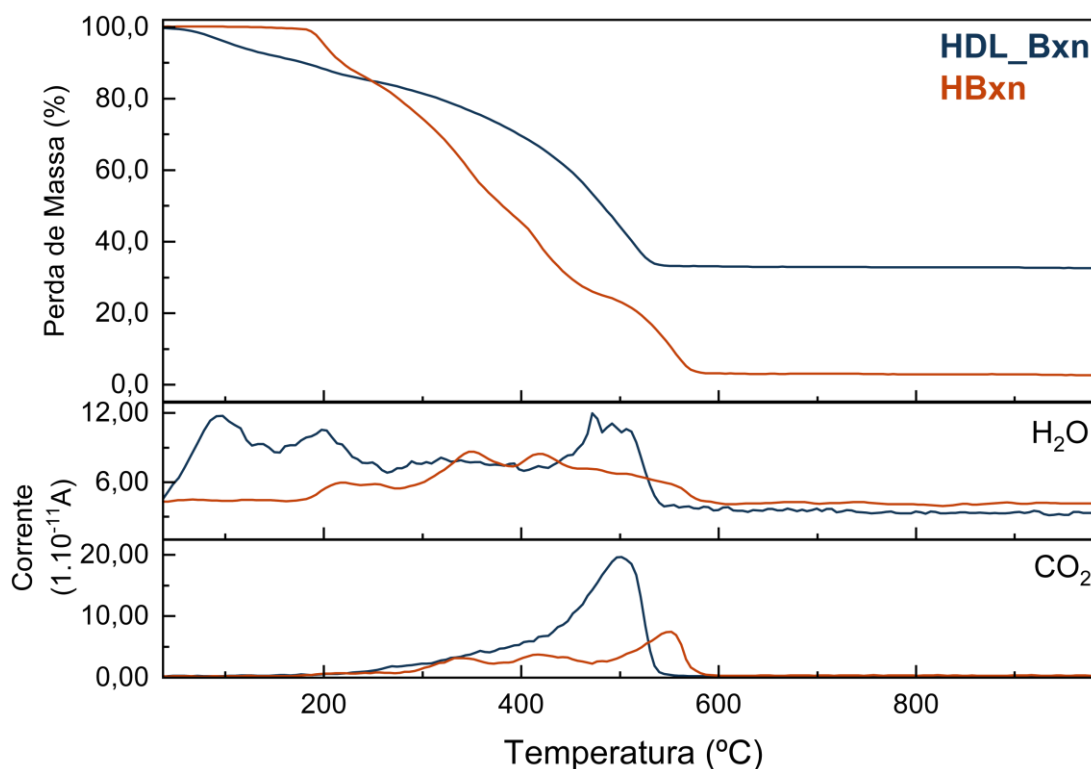


Figura 16| Curvas TG (superior) e MS (inferior) dividido em H₂O ($m/z = 18,00$) e CO₂ ($m/z = 44,00$) para HDL_Bxn e HNBxn.

Tabela 10| Detalhamento dos intervalos de temperatura em que se observou redução de massa dos compostos HBxn e HDL_Bxn. Valores obtidos das curvas termogravimétricas apresentadas na **Figura 16**.

HBxn		HDL_Bxn	
Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)
37-242	14,0	37-155	8,40
242-388	36,1	155-249	6,69
382-482	25,2	249-565	51,7
482-607	21,5	-	-
Resíduo	3,2	Resíduo	33,17

4 | Resultados e Discussão

Os resultados de ICP-OES em conjunto com a análise elementar (CHN) permitem a proposição da fórmula mínima dos materiais sintetizados, assim como verificar a razão entre os cátions no material, que podem influenciar em sua estrutura cristalina. Tais possíveis fórmulas mínimas estão dispostas, em conjunto com a razão entre os cátions e as porcentagens de carbono e água, na **Tabela 11**.

Tabela 11 | Proposição de fórmula mínima para os materiais obtidos, considerando dados de ICP-OES, CHN e análise termogravimétrica.

Fórmula proposta	Zn/Al ^{a)}	%C	%H ₂ O	g(corante)/ 100 g(HDL)	Abreviação
[Zn _{1,91} Al(OH) _{5,58}]Cl · 1,7 H ₂ O	1,91 (1,91) ^{b)}	-	9,75 (9,75)	-	HDL_Cl
[Zn _{1,95} Al(OH) _{5,90}][(C ₂₄ H ₂₆ O ₄ ²⁻) _{0,24} (Cl ⁻) _{0,52}] · 1,9 H ₂ O	1,95 (1,95)	34,71 (34,71)	8,40 (8,40)	22,8	HDL_NBxn
[Zn _{1,99} Al(OH) _{5,98}][(C ₂₅ H ₂₉ O ₄ ⁻) _{0,67} (Cl ⁻) _{0,33}] · 2,7 H ₂ O	1,99 (1,99)	34,42 (34,43)	8,40 (8,40)	45,1	HDL_Bxn

a) razão molar; b) valor obtido experimentalmente

Ao se observar as fórmulas mínimas propostas, verifica-se que há variação nas razões entre o número de mol de cátions, porém todas em torno de 1,9, como esperado para a síntese do HDL, que tinha uma razão nominal de 2:1. As diferenças encontradas nos valores das razões molares entre os cátions são esperadas considerando as variações observadas no parâmetro cristalográfico **a**, porém, esperava-se que houvesse menor quantidade de Zn²⁺ nos materiais com corante, já que eles apresentaram menores valores de **a** (e o raio iônico do alumínio é menor que o do zinco). Como comentado anteriormente, a aproximação dos picos (110) e (113) nos difratogramas dos HDLs causa certa imprecisão ao se tentar calcular o parâmetro cristalográfico **a** em amostras de baixa cristalinidade.

4 | Resultados e Discussão

Em relação aos materiais com a presença do corante orgânico, destaca-se a variação no número de mol de espécies intercaladas, a saber 0,24 mol de norbixinato (frente ao 0,50 mol esperado caso houvesse apenas intercalação de íons orgânicos com duas cargas negativas) no HDL_NBxn e 0,67 mol de bixinato no HDL_Bxn (frente ao 1,00 mol esperado, considerando intercalação apenas do íon orgânico com uma carga negativa), de forma que a presença dos íons cloreto é considerada para tornar a carga líquida igual a zero.

4.2.2 | Materiais obtidos por coprecipitação rápida

Para a síntese dos materiais por coprecipitação rápida, visando a utilização desses materiais como estabilizantes de Pickering, escolheu-se apenas os HDL intercalados com íons cloreto e norbixinato. A síntese do HDL_*flash*_NBxn foi escolhido devido ao elevado rendimento (e tempo reduzido) de purificação do H₂NBxn, enquanto o HDL_*flash*_Cl foi escolhido para tentar entender o papel do íon orgânico na formação e estabilidade da emulsão (descritos na Seção 4.3) e ter ideias sobre sua influência na síntese do material por coprecipitação rápida, especialmente no tamanho de partícula, como discutidos adiante.

A **Figura 17** apresenta a caracterização dos materiais HDL_*flash*_Cl e HDL_*flash*_NBxn (sem qualquer tipo de tratamento pós síntese) de forma comparada com os materiais HDL_Cl e HDL_NBxn. A comparação dos difratogramas (**Figura 17A**) e dos espectros Raman e na região do infravermelho (**Figura 17B e C**) mostram que tanto o arranjo cristalográfico quanto os espectros obtidos para ambos os

4| Resultados e Discussão

materiais é semelhante, independentemente do método utilizado para síntese, de forma que a discussão realizada na seção anterior é válida, também, para os materiais aqui descritos.

4| Resultados e Discussão

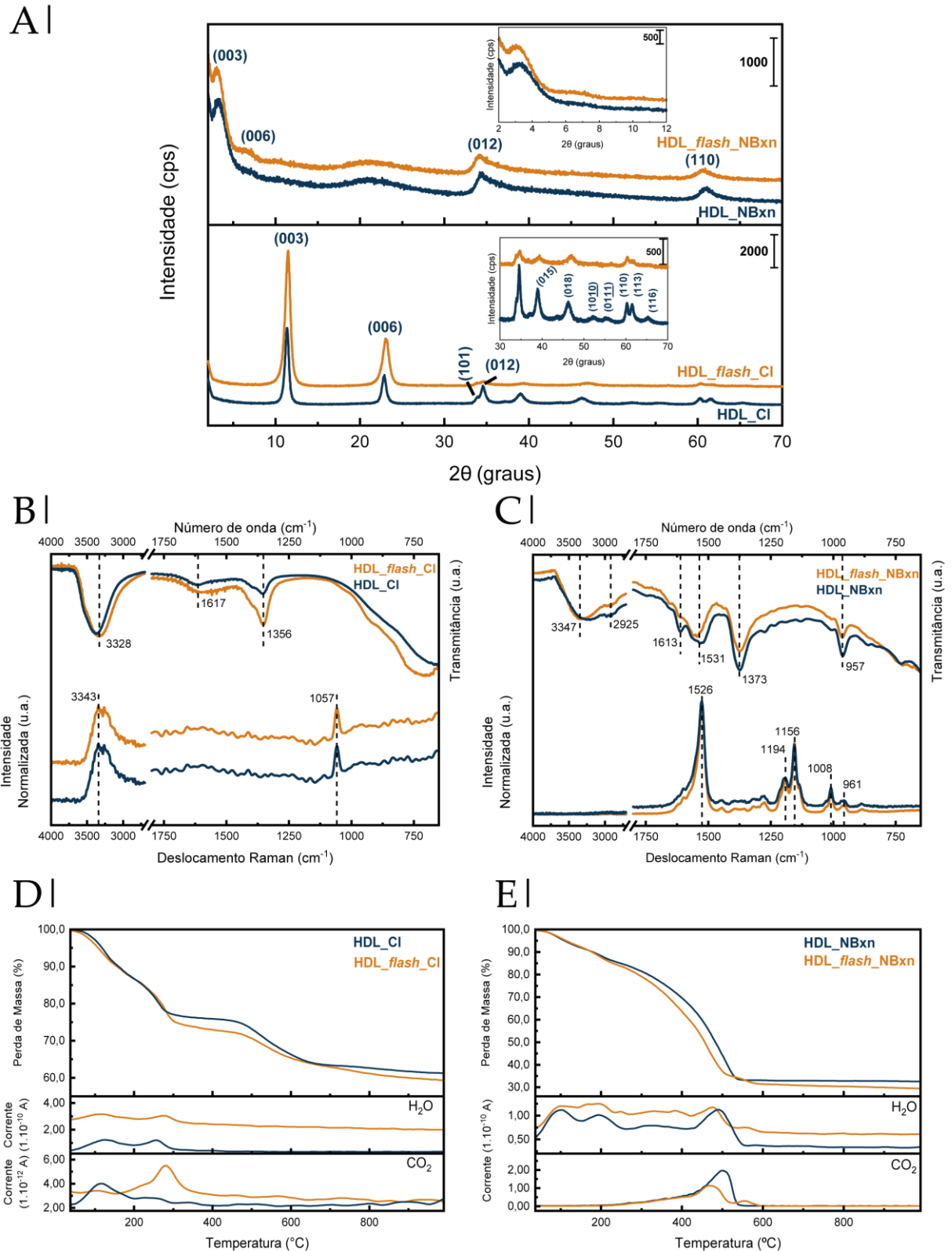


Figura 17| Caracterização dos materiais sintetizados por coprecipitação rápida (*flash*) em comparação com os materiais sintetizados por coprecipitação lenta. **A.** Difratoogramas de raios X obtidos pelo método do pó; **(B-C)** Espectros Raman (inferior) e FTIR (superior) para os materiais com **B.** íon Cl^- e **C.** íon NBxn^{2-} ; **(D-E)** Curvas TG (superior) e MS (inferior)

4 | Resultados e Discussão

dividido em H₂O ($m/z = 18,00$) e CO₂ ($m/z = 44,00$) para os materiais com D. íon Cl⁻ e E. íon NBxn²⁻.

A principal diferença encontrada na caracterização dos materiais está na observação de curvas termogravimétricas que, por consequência, apresentam mudanças também no perfil da análise por espectrometria de massas dos gases evoluídos, diferentes para ambos materiais (**Figura 17D** e **E**). Nos dois casos, a decomposição térmica do material, em atmosfera oxidante, mostrou uma massa residual um pouco menor para os materiais sintetizados pelo método rápido, a saber 59,28 % (HDL_flash_Cl) e 29,38 % (HDL_flash_NBxn), frente aos preparados pelo método lento [61,21 % (HDL_Cl) e 32,63 % (HDL_NBxn)]. A fórmula mínima proposta para esses materiais está presente na **Tabela 12**.

Tabela 12 | Proposição de fórmula mínima para os materiais obtidos tanto pelo método de coprecipitação lenta quanto rápida, considerando dados de ICP-OES, CHN e análise termogravimétrica.

Fórmula proposta	Zn/Al ^a	%C	%H ₂ O	Abreviação
[Zn _{1,91} Al(OH) _{5,82}]Cl · 1,72 H ₂ O	1,91 (1,91) ^b	-	9,75 (9,75)	HDL_Cl
[Zn _{1,79} Al(OH) _{5,58}]Cl · 1,69 H ₂ O	1,79 (1,79)	-	10,0 (10,0)	HDL_flash_Cl
[Zn _{1,95} Al(OH) _{5,90}][(C ₂₄ H ₂₆ O ₄ ²⁻) _{0,239} (Cl) _{0,521}] · 1,85 H ₂ O	1,95 (1,95)	34,71	8,40 (8,40)	HDL_NBxn
[Zn _{2,06} Al(OH) _{6,12}][(C ₂₄ H ₂₆ O ₄ ²⁻) _{0,223} (Cl) _{0,557}] · 1,69 H ₂ O	2,06 (2,06)	32,07	7,61 (7,61)	HDL_flash_NBxn

a) razão molar; b) valor obtido experimentalmente

Para o HDL_flash_Cl, pode-se explicar essa diferença ao se observar que há liberação de maior quantidade de CO₂, ao se analisar a curva de massas dos gases evoluídos. Nesse caso, ressalta-se que a quantidade é, ainda, pequena (considerando a ordem de grandeza do eixo que descreve essa curva), e que o gás provavelmente se

4| Resultados e Discussão

apresenta adsorvido à superfície, porém com uma afinidade maior por ela quando comparado ao HDL_Cl, já que o CO₂ é liberado em uma temperatura maior. A redução na razão entre os metais, mostrada na fórmula mínima proposta, pode ser consequência da permanência de íons Zn²⁺ ainda em solução, provavelmente devido à rápida formação dos núcleos, que reduziu a quantidade de material precipitado, ou a formação de espécie de zinco que compete com a precipitação e permanece em solução. Considerando o difratograma de raios X, o pico para o plano (110) para esses materiais está em valores próximos (1,538 Å para HDL_Cl e 1,536 Å para HDL_*flash*_Cl), de forma que tal efeito não era esperado. Assim, uma possibilidade é a repetição dessa medida, a fim de verificar sua reprodutibilidade.

Para o HDL_*flash*_NBxn, porém, o comportamento não era esperado, já que a quantidade de carbono identificado é um pouco menor do que seu equivalente obtido pela coprecipitação lenta. A análise das curvas de CO₂ e H₂O para esses materiais apresenta mudanças quando se compara os materiais obtidos pelos diferentes métodos. A curva de gás carbônico para o HDL obtido pelo método *flash* mostra um segundo evento de liberação, por volta de 550 °C, enquanto a curva de vapor de água, nessa mesma região, apresenta também um evento diferenciado. A liberação de tanto H₂O quanto CO₂ nesse evento diferenciado sugere a possibilidade da existência do intercalante interagindo de uma outra forma com o material, e não apenas a atração eletrostática citada anteriormente. Entretanto, ainda que essa

4 | Resultados e Discussão

interação exista, não é possível explicar o porquê da diferença de massa observada na curva TG.

A fim de verificar o tamanho das partículas em suspensão, em conjunto com a influência do tempo de tratamento hidrotérmico nessa propriedade, e entender sobre sua estabilidade em suspensão, realizou-se medidas de DLS e potencial ζ , cujos resultados estão presentes na **Figura 18**. Medidas de DLS para partículas preparadas pelo método de coprecipitação lenta não foram realizadas, já que, nesses casos, havia deposição rápida das partículas (menor que o tempo necessário para realização da medida).

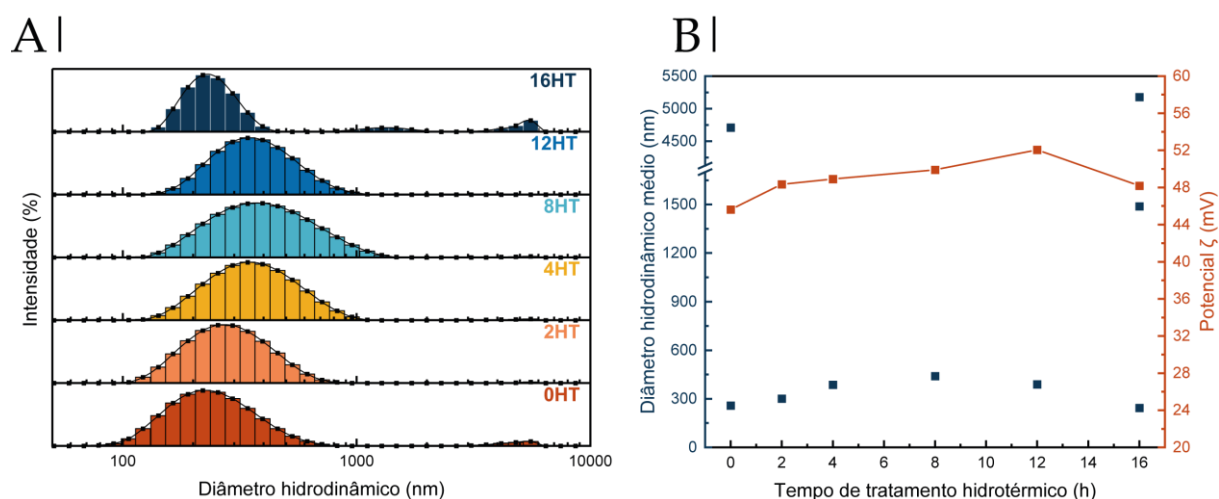


Figura 18 | Resultados das análises de DLS e potencial Zeta (ζ) para o HDL_Cl obtido pela coprecipitação rápida. **A**. Distribuições de tamanho em função do tempo de tratamento hidrotérmico: 0, 2, 4, 8, 12 e 16 h (0, 2, 4, 8, 12, 16HT, respectivamente); **B**. Variação do diâmetro hidrodinâmico médio e do potencial ζ em função do tempo de tratamento hidrotérmico realizado no material sintetizado.

As distribuições de diâmetro hidrodinâmico (**Figura 18A**) do HDL_*flash*_Cl ao longo do tratamento hidrotérmico mostram que, inicialmente, há duas populações: uma por volta de 200 nm e outra por volta de 5000 nm. Com 2 h de tratamento HT, percebeu-se o desaparecimento dessa população de maior diâmetro, em conjunto

4 | Resultados e Discussão

com deslocamento de toda população menor para a direita (que passou a ser centrada por volta de 300 nm). Conforme se aumentou o tempo de tratamento HT, percebeu-se, até 8 h, deslocamento dessa população para direita e aumento da amplitude de sua distribuição. Entretanto, com 12 h de tratamento, houve uma redução nessa amplitude e leve deslocamento da população para a esquerda. Por fim, com 16 h de tratamento HT, observou-se o aparecimento de mais duas populações, uma por volta de 1500 nm e outra por volta de 5000 nm. Essa mesma tendência pode ser observada no diâmetro hidrodinâmico médio (**Figura 18B**).

Esse comportamento pode ser interpretado considerando que, inicialmente, a população de maior diâmetro médio é, na verdade, um aglomerado de partículas menores que, ao longo das primeiras 2 h de tratamento HT, se separou. Isso, em conjunto com o processo de dissolução e precipitação que ocorre durante esse tipo de tratamento pós-síntese, levou ao aumento observado tanto do diâmetro hidrodinâmico médio quanto da amplitude da distribuição de tamanho. Esses mecanismos agem de tal forma que, com 16 h de tratamento HT, há novamente a formação de partículas maiores, formadas a partir das partículas menores, já que houve redução da amplitude de sua distribuição.

No que diz respeito aos valores de potencial Zeta, percebe-se que há um aumento até 12 h de tratamento hidrotérmico, variando de +45,6 a +52,04 mV, diminuindo para +48,18 mV em 16 h. Valores positivos de potencial Zeta são esperados para os HDL (SUN; DEY, 2015; XU et al., 2006) devido ao caráter positivo

4 | Resultados e Discussão

adquirido pela lamela após substituição isomórfica de cátions bivalentes por trivalentes. Esse elevado valor de potencial sugere partículas muito estáveis em suspensão e baixa agregação (GREENWOOD; KENDALL, 1999; HANAOR et al., 2012).

No presente trabalho, a rápida formação dos núcleos se mostrou eficiente na síntese de dispersões de HDL intercalados com íons Cl^- , de tal forma que não foi necessária nenhuma etapa adicional de estabilização, uma vez que os materiais estavam com carga residual positiva devido à substituição isomórfica de metais divalentes por trivalentes. Por outro lado, a molécula de norbixina utilizada pode ser entendida, além de ânion para intercalação, como um possível estabilizante de partículas em suspensão já que possui cadeia longa, carga residual negativa no valor de pH de síntese e possibilidade de adsorção em partículas sólidas.

Estudo sistemático (ALLADA et al., 2002, 2005) sobre a estabilidade termodinâmica e solubilidade dos HDL considerando tanto a variação de metais que formam a lamela quanto o ânion intercalado mostraram que, para uma mesma lamela (Mg^{2+} e Al^{3+}), a mudança de ânion de NO_3^- para CO_3^{2-} alterou significativamente a estabilidade do sólido, passando de -1119,36 para -1297,19 kJ mol^{-1} (entalpia de formação). Uma vez que a solubilidade de um material é fator chave para governar a sua precipitação e, por isso, para a obtenção de dispersões homogêneas (DE SOUSA FILHO; SERRA, 2015), pode-se inferir que o íon norbixinato influencia a estabilidade/solubilidade do HDL de tal forma que deve

4 | Resultados e Discussão

também influenciar em sua precipitação. De fato, como será discutido adiante, a síntese rápida na presença do íon orgânico leva à formação de partículas que possuem comportamento diferente do discutido para o material sintetizado em sua ausência.

Na **Figura 19 A e B**, apresenta-se os resultados comparativos da distribuição de tamanho e do diâmetro hidrodinâmico médio em conjunto com o potencial Zeta para o HDL_*flash*_Cl e o HDL_*flash*_NBxn. As partículas sintetizadas na presença do íon orgânico estão distribuídas em duas populações, uma centrada por volta de 100 nm (menor intensidade) e outra centrada por volta de 750 nm (maior intensidade). Assim, verifica-se que as partículas sintetizadas na presença de norbixinato tendem a formar partículas maiores (ou agregados), que pode ser formado por aglutinação das partículas menores, caso que será explorado adiante. O potencial Zeta dessas partículas apresenta-se em torno de -40 mV, sugerindo que há adsorção de NBxn²⁻ na superfície do HDL e elevada estabilidade coloidal, ou seja, de fato o íon se comportou tanto como intercalante quanto como estabilizante de superfície.

A fim de verificar se as populações de partícula encontradas em valores elevados de diâmetro hidrodinâmico eram formadas por aglomerados das partículas menores encontradas, realizou-se tratamento hidrotérmico de forma sistemática, variando-se a temperatura e o tempo de tratamento. Fez-se tratamento hidrotérmico por 2 h em temperaturas diferentes (50, 70 e 100 °C) e, a 100 °C também por 4 h (**Figura 19 C e D**).

4 | Resultados e Discussão

É possível verificar que só se observou fenômenos de agregação, independentemente da temperatura utilizada, já que todas as populações foram deslocadas para a direita. Além disso, para as temperaturas 50 e 70 °C, observou-se não só o aumento do tamanho das populações como um todo, mas, ainda, o aparecimento de uma população em torno de 6000 nm. Já que o tratamento térmico a 100 °C não apresentou essa população de partículas de tamanho elevado, aumentou-se o tempo de tratamento pós-síntese de forma que foi possível verificar que mais tempo (4 h) é necessário para que mesma situação (aparecimento de um grupo de partículas com diâmetro hidrodinâmico elevado) seja atingida, contando ainda com o desaparecimento por completo da população de partículas de tamanho menor.

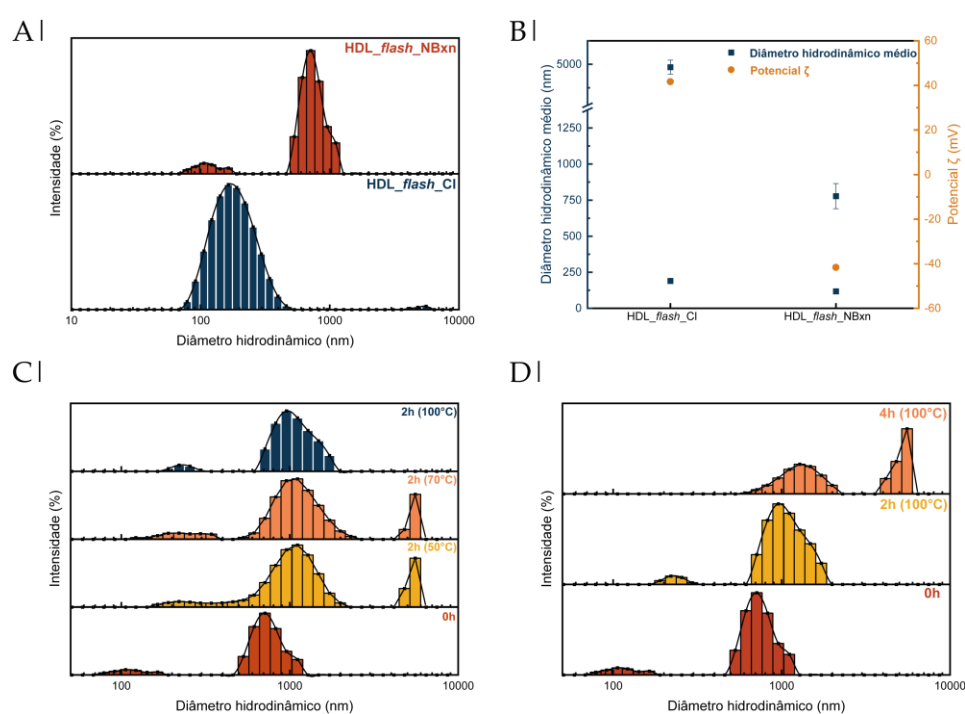


Figura 19 | (A-B) Medidas realizadas para HDL_*flash*_NBxn e HDL_*flash*_CI. **A.** Distribuição de tamanhos obtidas por DLS; **B.** Valores de diâmetro hidrodinâmico médio e potencial Zeta; **(C-D)** Distribuição de tamanhos (obtidas por DLS) após diferentes tratamentos pós-síntese para o HDL_*flash*_NBxn **C.** Resultados após tratamento hidrotérmico de 2 h em diferentes temperaturas (50, 70 e 100 °C); **D.** Resultados após tratamento hidrotérmico a 100 °C por diferentes intervalos de tempo (2 e 4 h).

4 | Resultados e Discussão

Dessa forma, considerando a natureza do ânion norbixinato (diácido carboxílico de cadeia longa e conjugada), pode-se supor que as interações de natureza fraca (interações de van der Waals) entre as cadeias carbônicas das moléculas do corante favorecem, em conjunto com a convecção gerada no interior da autoclave, a agregação das partículas, formando as populações observadas. Assim, ainda que tal íon forneça a possibilidade de estabilidade coloidal, como comentado para o potencial Zeta, tal efeito é superado pelo tamanho da molécula, que favorece as interações intermoleculares de origem atrativa.

Na tentativa de obter dispersões coloidais com partículas em uma única população, buscou-se alterar o tratamento pós-síntese. A **Figura 20** apresenta os resultados de DLS para a dispersão de HDL_flash_NBxn após ação de ultrassom de ponteira por diferentes intervalos de tempo.

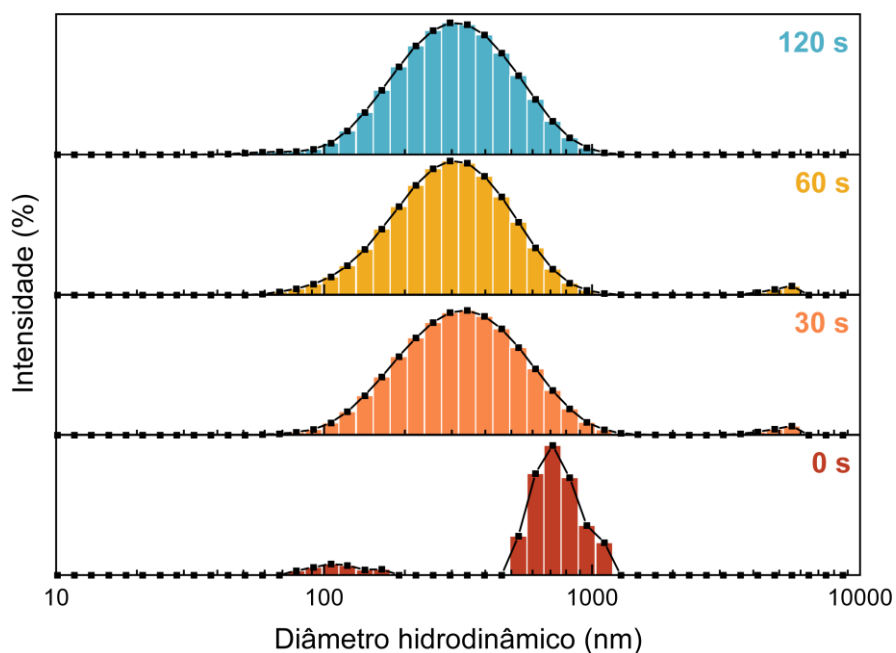


Figura 20 | Distribuição de tamanho das partículas de HDL_flash_NBxn em suspensão, após ação de ultrassom de ponteira por 0, 30, 60 e 120 s.

4 | Resultados e Discussão

A aplicação de ultrasonicação por 30 s, devido ao processo de cavitação, permitiu a quebra da população de partículas de maior tamanho. Assim, observa-se a formação de partículas menores, dando origem a uma única população centrada em torno de 300 nm. Entretanto, provavelmente devido ao choque entre algumas partículas, verifica-se, também, o aparecimento de uma população de tamanho maior, em torno de 6000 nm. Porém, além de ser uma pequena população de partículas, ela não é mais observada com a aplicação do processo de ultrasonicação por 120 s. É importante ressaltar que, em todos os intervalos de tempo aplicados, a população de partículas de menor tamanho praticamente não sofreu alterações.

A aplicação desse tratamento pós-síntese (por 120 s) permitiu a preparação de dispersões coloidais dos materiais sintetizados em diferentes concentrações, fator importante para o estudo das emulsões de Pickering. A **Figura 21** apresenta os resultados de diâmetro hidrodinâmico médio e de potencial Zeta para essas dispersões em suas respectivas concentrações.

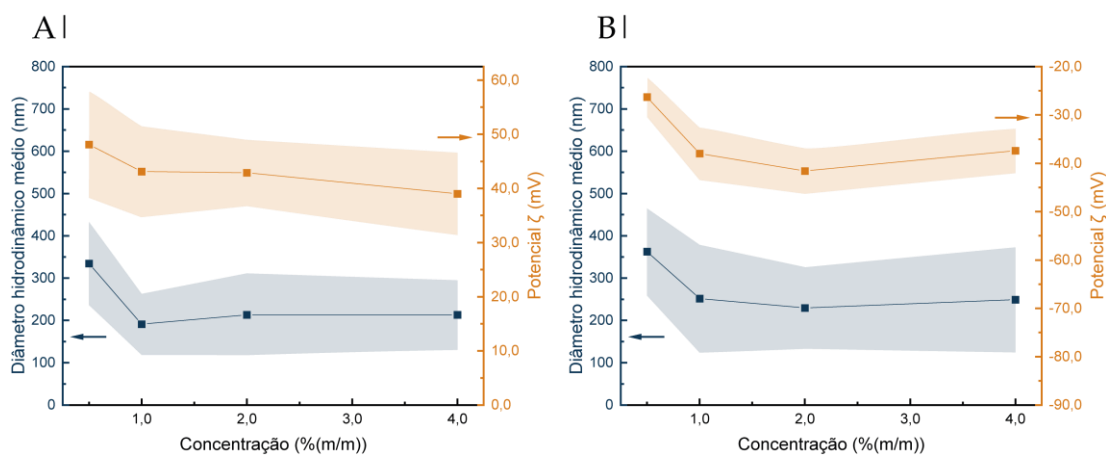


Figura 21 | Resultados de diâmetro hidrodinâmico médio e potencial Zeta em função da concentração da dispersão de **A.** HDL_flash_Cl e **B.** HDL_flash_NBxn.

4 | Resultados e Discussão

Para as dispersões com concentração de 1,0, 2,0 e 4,0 % (m/m), o diâmetro hidrodinâmico médio praticamente não sofre alteração, considerando a margem de erro das medidas. Além disso, o tamanho das partículas obtidas é semelhante independentemente do ânion intercalado. Nessas mesmas concentrações, o potencial Zeta para o HDL_*flash*_Cl está em torno de +40,0 mV, enquanto para o HDL_*flash*_NBxn está em torno de -40,0 mV. Já para as dispersões com concentração igual a 0,50 % (m/m), observa-se comportamento discrepante em relação às demais concentrações, porém semelhança entre os dois materiais. Nos dois casos, foram as dispersões que apresentaram maiores valores de potencial Zeta (em módulo) e diâmetro hidrodinâmico médio, em torno de 350 nm para o HDL intercalado tanto com íon cloreto quanto norbixinato.

Para finalizar a caracterização dos materiais, e considerando sua aplicação como emulsificantes em estado sólido, realizou-se que medidas de ângulo de contato entre as três fases que farão parte da emulsão, a saber: a água, o óleo (Nujol) e o HDL (no formato de disco). Um esquema de como a medida foi realizada está presente na **Figura A4** (em Anexo) enquanto os resultados obtidos são mostrados na **Figura 22**.

4 | Resultados e Discussão

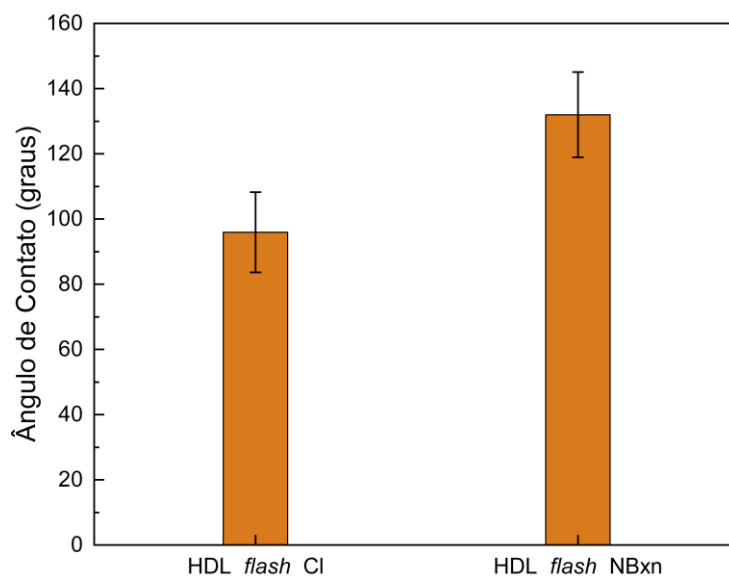


Figura 22 | Ângulo de contato obtido para os materiais HDL_flash_Cl e HDL_flash_NBxn por meio do método de deposição de gota sobre seus discos compactos

O HDL_flash_Cl apresentou ângulo de contato igual a $95,9 \pm 12,3^\circ$ enquanto o HDL_flash_NBxn apresentou valor igual a $132,0 \pm 13,1^\circ$. Essa diferença de valores indica que o HDL com o íon orgânico apresenta menor afinidade pela água (é mais hidrofóbico) que o material intercalado com o íon cloreto (comparativamente mais hidrofílico). Tal observação condiz com o esperado, já que a cadeia carbônica do corante (longa e conjugada) sugere que a molécula tenha maior afinidade pela fase oleosa. Além disso, essa diferença observada nos valores dos ângulos sugere que os materiais se comportarão de forma diferente em relação às emulsões estabilizadas por eles, assunto discutido na seção a seguir.

4.3 | Emulsões de Pickering

Considerando os resultados apresentados e discutidos na Seção 4.2.2 e, também, por questões de praticidade, nesta seção serão utilizados os termos HDL_Cl e HDL_NBxn para se referir aos materiais utilizados como estabilizantes de Pickering

4 | Resultados e Discussão

para o preparo de emulsões. Entretanto, tais materiais foram sintetizados por meio da técnica de coprecipitação rápida e dispersos com a ultrasonicação, tendo os tamanhos de partícula e potencial ζ apresentados na **Figura 21**.

4.3.1 | Influência do processo de emulsificação

Conforme descrito na Seção 3.3.1.1, as emulsões foram preparadas utilizando dispersão de HDL_Cl com concentração 0,35 % (m/m) e de HDL_NBxn com concentração 0,69 % (m/m). Devido a essa diferença, aqui será discutido apenas a influência do método de preparo considerando cada HDL individualmente, a fim de se entender qual deles (ultrasonicação ou agitação mecânica utilizando o equipamento Turrax®) leva a emulsões mais estáveis frente ao fenômeno da cremação.

A maioria das emulsões obtidas foram do tipo o/w, mediante teste de dispersão de uma gota da emulsão em água (facilmente espalhada) e em óleo (imiscibilidade). A dispersão das emulsões formadas com fração óleo até 0,60 em água acontecia com facilidade, enquanto as frações superiores demandavam maior agitação da mistura. Em nenhuma delas, porém, a dispersão em óleo acontecia.

Considerando o valor de ângulo de contato para o HDL intercalado com ânion orgânico, esperava-se a obtenção de emulsões tipo w/o devido a elevada hidrofobicidade apresentada pelo material. Kaptay (KAPTAY, 2006) mostrou ser possível a obtenção de emulsões o/w com materiais que apresentassem ângulo de contato no intervalo entre 50,7 e 129,3°, assumindo que a estabilização fosse feita com

4 | Resultados e Discussão

uma camada dupla de partículas ao redor da gotícula da fase dispersa, para partículas esféricas.

Além disso, o método de medida do ângulo de contato pode ter influenciado no resultado final. Uma vez que a medida foi feita em discos comprimidos dos materiais, obtidos mediante aplicação de pressão elevada, a condição sob a qual as partículas do material estavam nesse disco pode não representar de maneira fiel a forma como elas estariam em dispersão antes de se submeterem à interação com a fase óleo. Uma alternativa seria a realização da medida em um filme do material depositado em um substrato de vidro (DE FOLTER; VAN RUIJVEN; VELIKOV, 2012), porém, para o HDL_NB_xn não foi possível a obtenção de um filme contínuo, de forma que partes do substrato ficavam expostas e interfeririam na medida posterior.

A estabilidade frente à cremeação foi estudada por meio do índice de cremeação após 8 h de preparo das emulsões. Como pode ser observado na **Figura 23A**, em ambos os casos estudados para a emulsão estabilizada com HDL_Cl, a estabilidade demonstrada foi semelhante, caracterizada por elevado índice de cremeação em baixa fração óleo e baixo índice em alta fração.

4 | Resultados e Discussão

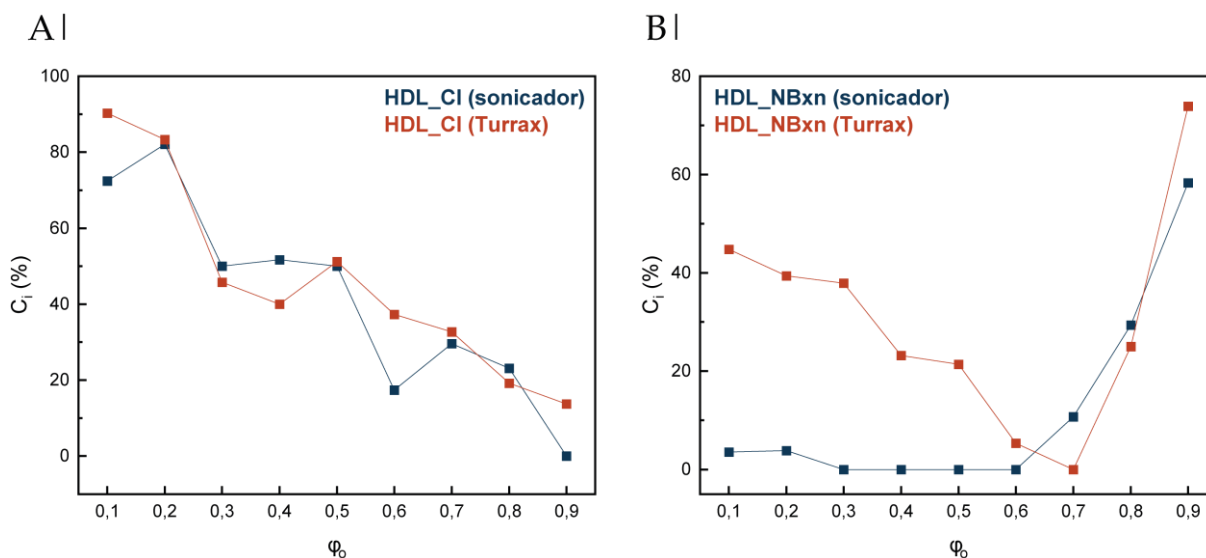


Figura 23 | Índice de cremação obtido após 8 h de repouso para as emulsões preparadas utilizando sonicador e agitação mecânica em Turrax®. **A.** Emulsões preparadas utilizando HDL_C1 como estabilizante de Pickering (0,35 % (m/m)); **B.** Emulsões preparadas utilizando HDL_NBxn como estabilizante de Pickering (0,69 % (m/m)).

Em relação às emulsões preparadas com HDL_NBxn como estabilizante (**Figura 23B**), observa-se que o método de emulsificação influenciou diretamente na estabilidade da emulsão. Para as frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,60, observa-se que a emulsão preparada utilizando sonicador de ponteira apresentou C_i variando de 0 a 3,9 %, enquanto para aquelas preparadas utilizando agitador Turrax esse índice variou de 44,8 a 5,36 %. Como o C_i indica a razão entre a altura emulsionada e a altura total, os valores elevados indicam elevada presença de água como fase inferior e instabilidade do sistema.

Zhang, Zhang e Sun (ZHANG; ZHANG; SUN, 2015), em seus estudos sobre a influência do processo de emulsificação na estabilidade do produto final, verificaram que, em sistemas cujos estabilizantes eram HDL intercalado com dodecilsulfato (DS), as emulsões preparadas com ultrasonicação apresentavam elevada estabilidade frente àquelas preparadas por agitação em vórtex. No estudo, eles atribuíram essa

4 | Resultados e Discussão

característica à formação de uma rede de gotículas unidas por pontes, caracterizada pela mesma partícula que se uniria a duas gotículas. Considerando a semelhança estrutural entre o íon DS e o corante norbixinato, compostos orgânicos de cadeia longa, é plausível sugerir que o mesmo efeito pode ter sido responsável pela diferença observada entre as emulsões preparadas neste trabalho. Corrobora-se a isso, ainda, o fato de tal efeito não ter sido observado nas emulsões utilizando o HDL_Cl. A formação de pontes entre gotículas será retomada mais adiante.

Considerando os resultados discutidos acima, escolheu-se o procedimento de ultrasonicação para a continuidade dos estudos relacionados a emulsões de Pickering estabilizadas por HDL. Nas seções seguintes, pretende-se, então, verificar a influência da concentração da dispersão dos materiais na estabilidade e tamanho de gotícula das emulsões, seguido por uma discussão da influência do ânion na região interlamelar nas propriedades finais (comportamento gel) dos sistemas.

4.3.2 | Influência da concentração da dispersão de HDL

O aspecto visual das emulsões preparadas com HDL_Cl em função da fração óleo e da concentração da dispersão está mostrado na **Figura 24**. A presença de bolhas em alguns dos frascos é consequência da transferência do tubo de ensaio de preparo de emulsão para o frasco de estocagem, e tais bolhas não sofreram mudanças ao longo do tempo de observação. O fenômeno de cremeação é observado para a maioria dos frascos com fração óleo até 0,60, em todas as concentrações, nos quais a

4| Resultados e Discussão

fase inferior é límpida e provavelmente composta de água deionizada, de forma que todo o material deve compor a fase superior.

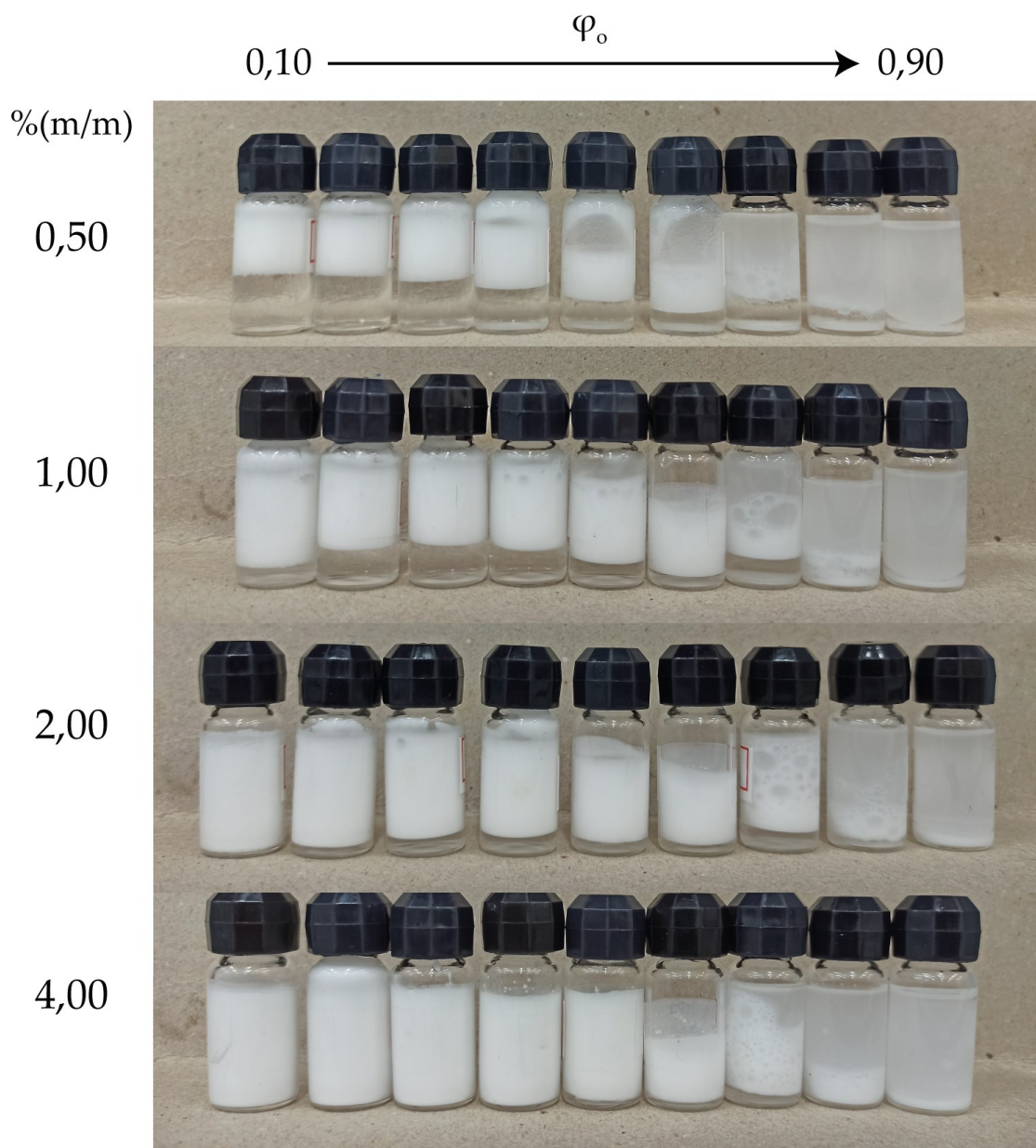


Figura 24| Aspecto visual das emulsões de Pickering que foram feitas utilizando HDL_Cl como estabilizante (após 8 h de preparo). As emulsões recém preparadas têm aspecto semelhante ao mostrado para $\phi_0 = 0,10$ e $4,00$ % (m/m).

Para as frações 0,70, 0,80 e 0,90, o comportamento observado depende significativamente da concentração da dispersão de HDL utilizada. Para 0,50 % (m/m), o fenômeno de cremação é, também, presente, porém é possível verificar a

4 | Resultados e Discussão

existência de um corpo de fundo branco, que pode ser identificado como HDL_Cl depositado. Com as concentrações 1,00, 2,00 e 4,00 % (m/m), verifica-se a formação de duas fases creme, uma mais translúcida e a outra mais opaca, especialmente nas frações óleo 0,70 e 0,80, que pode tanto ser composta por gotículas de emulsão quanto ser a dispersão de HDL_Cl. Considerando a existência de elevada quantidade de óleo nessas frações, é mais prudente sugerir que as fases inferiores são dispersões de HDL_Cl em água, que não compõem a fase oleosa.

A microestrutura qualitativa de algumas emulsões, obtidas em sistemas diluídos por meio da técnica de microscopia óptica, está apresentada na **Figura 25**; as imagens das demais composições podem ser vistas na **Figura A5**, em anexo. Para as frações 0,10, 0,30 e 0,50, observa-se que, mantendo a quantidade de óleo constante, o tamanho das gotículas diminui conforme há aumento da concentração de dispersão de HDL_Cl utilizada. Ainda nesse intervalo, para uma mesma concentração, observa-se que o aumento da fração óleo causa aumento da gotícula de fase dispersa.

O aumento da concentração do sólido implicar redução do tamanho da gotícula de fase dispersa é um efeito bastante observado na literatura sobre emulsões de Pickering (FRELICHOWSKA; BOLZINGER; CHEVALIER, 2010; WU; MA, 2016). O que ocorre é que, com aumento da quantidade de material que servirá como estabilizante, assim que a gotícula de fase dispersa for formada, ela será imediatamente recoberta com o material sólido, antes de encontrar outra gotícula de óleo para coalescer, fenômeno que ocorre de forma mais evidenciada em baixa

4| Resultados e Discussão

concentração. Em raciocínio análogo, dada concentração constante, o aumento da fração óleo implica aumento da gotícula já que haverá mais gotículas de óleo para serem estabilizadas numa mesma quantidade de sólido presente.

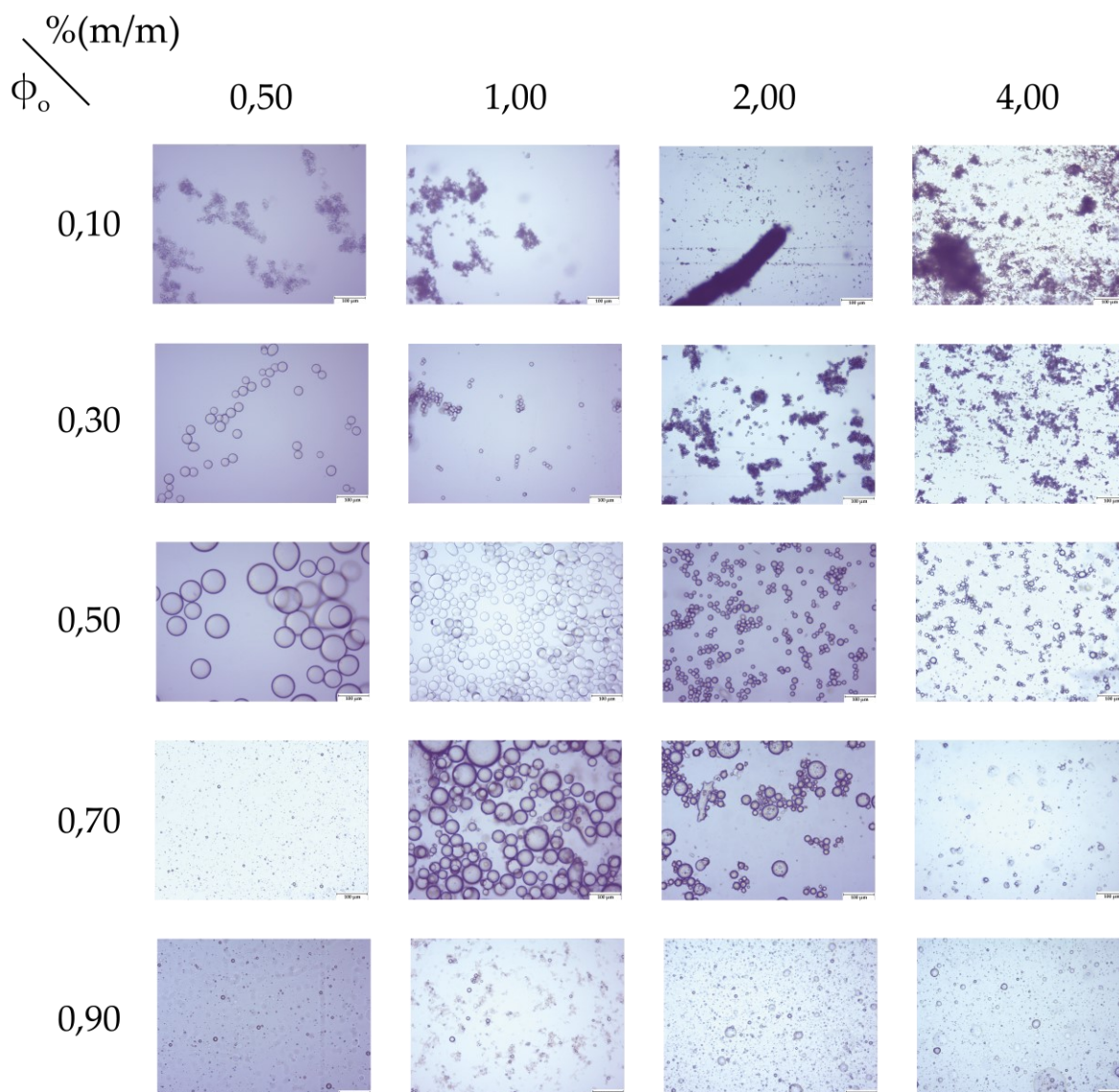


Figura 25| Imagens de microscopia óptica obtidas para as emulsões de Pickering estabilizadas com HDL_Cl em função da concentração (0,50-4,00 % (m/m)) e fração óleo (ϕ_o 0,10-0,90, frações ímpares), todas as imagens obtidas com a objetiva de 10 vezes de emulsões recém preparadas.

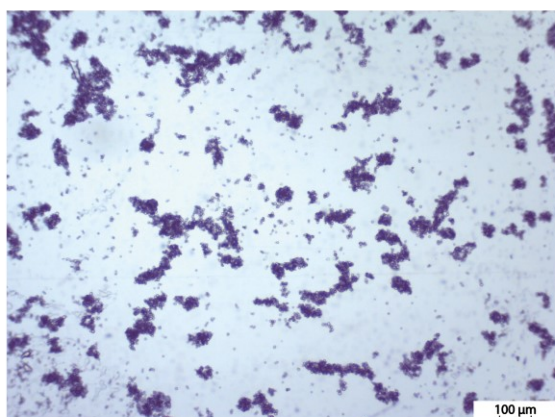
Para a fração óleo 0,70, um comportamento diferenciado é observado, já que as gotículas só se tornam nitidamente identificáveis para as concentrações 1,00 e 2,00 % (m/m), enquanto para 0,50 e 4,00 % (m/m) elas praticamente não aparecem. Quando

4| Resultados e Discussão

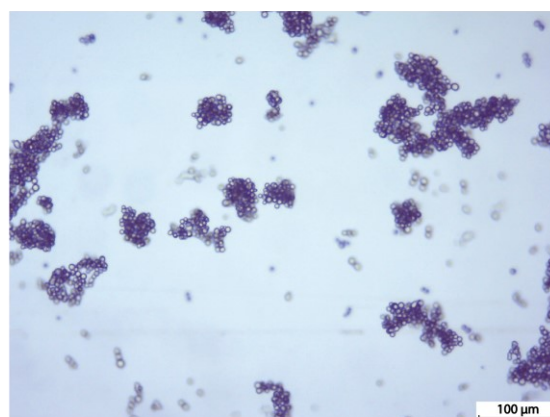
$\phi_o = 0,90$, o comportamento das gotículas é praticamente o mesmo independentemente da quantidade de material apresentado. No caso de $\phi_o = 0,70$, entende-se que dada a elevada quantidade de óleo, apenas acima de determinada concentração (1,00 % (m/m)) foi possível estabilizar suas gotículas e, ao continuar a aumentar tal concentração, o mesmo efeito anterior foi observado. Já para a fração 0,90, provavelmente a quantidade de óleo era elevada independentemente da quantidade de material sólido presente.

Apesar do aumento da concentração de dispersão levar à formação de estruturas (os objetos de tamanho relativamente elevado visíveis mesmo em baixas ampliações) que podem não condizer com o raciocínio apresentado até aqui, a **Figura 26** apresenta uma mesma amostra em diferentes magnificações. Observa-se que tais estruturas são, na verdade, compostas por pequenas gotículas de fase dispersa unidas entre si em uma estrutura tridimensional (**Figura 26D**), formando um aglomerado. Como essas imagens são obtidas em sistemas diluídos devido à elevada opacidade que os sistemas concentrados possuem, que dificultam a visualização em microscópio óptico, pode-se sugerir que, originalmente, a estrutura da emulsão como um todo é de gotículas próximas umas às outras, podendo ou não compartilhar a mesma camada de estabilizante sólido, formando uma rede tridimensional.

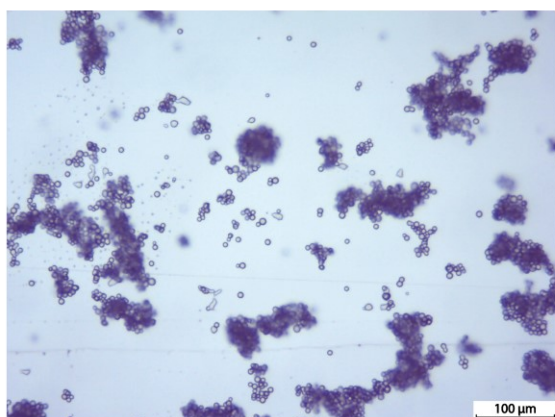
A |



B |



C |



D |

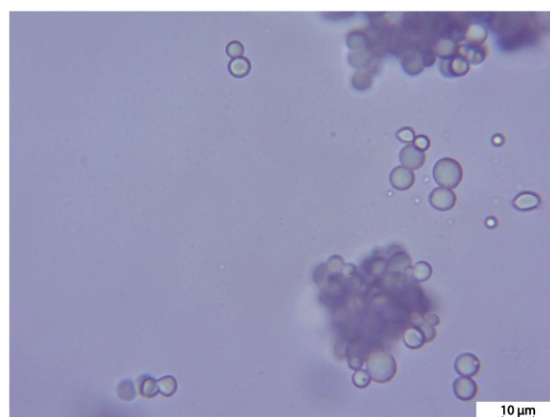


Figura 26 | Emulsão de Pickering estabilizada por HDL-Cl 2,00 % (m/m) e fração óleo (ϕ_o) 0,30 em diferentes magnificações. **A.** Imagem obtida com objetiva de 4 vezes; **B-C.** Imagens obtidas com objetiva de 10 vezes; **D.** Imagem obtida com objetiva de 40 vezes.

De acordo com o relatado na literatura (LEE; CHAN; MOHRAZ, 2012), a obtenção de uma estrutura tridimensional é, como comentado na seção anterior, consequência do processo de emulsificação utilizado e responsável pela elevada estabilidade dessas emulsões. A **Figura 27** mostra a evolução do índice de cremação desde o preparo até 8 h depois para as emulsões que tiveram sua microestrutura discutida. De maneira geral, é possível observar que praticamente todas as emulsões, após determinado intervalo de tempo (que não parece seguir tendência alguma),

4 | Resultados e Discussão

atinge um valor de cremeação constante, que é o observado visualmente na **Figura**

24.

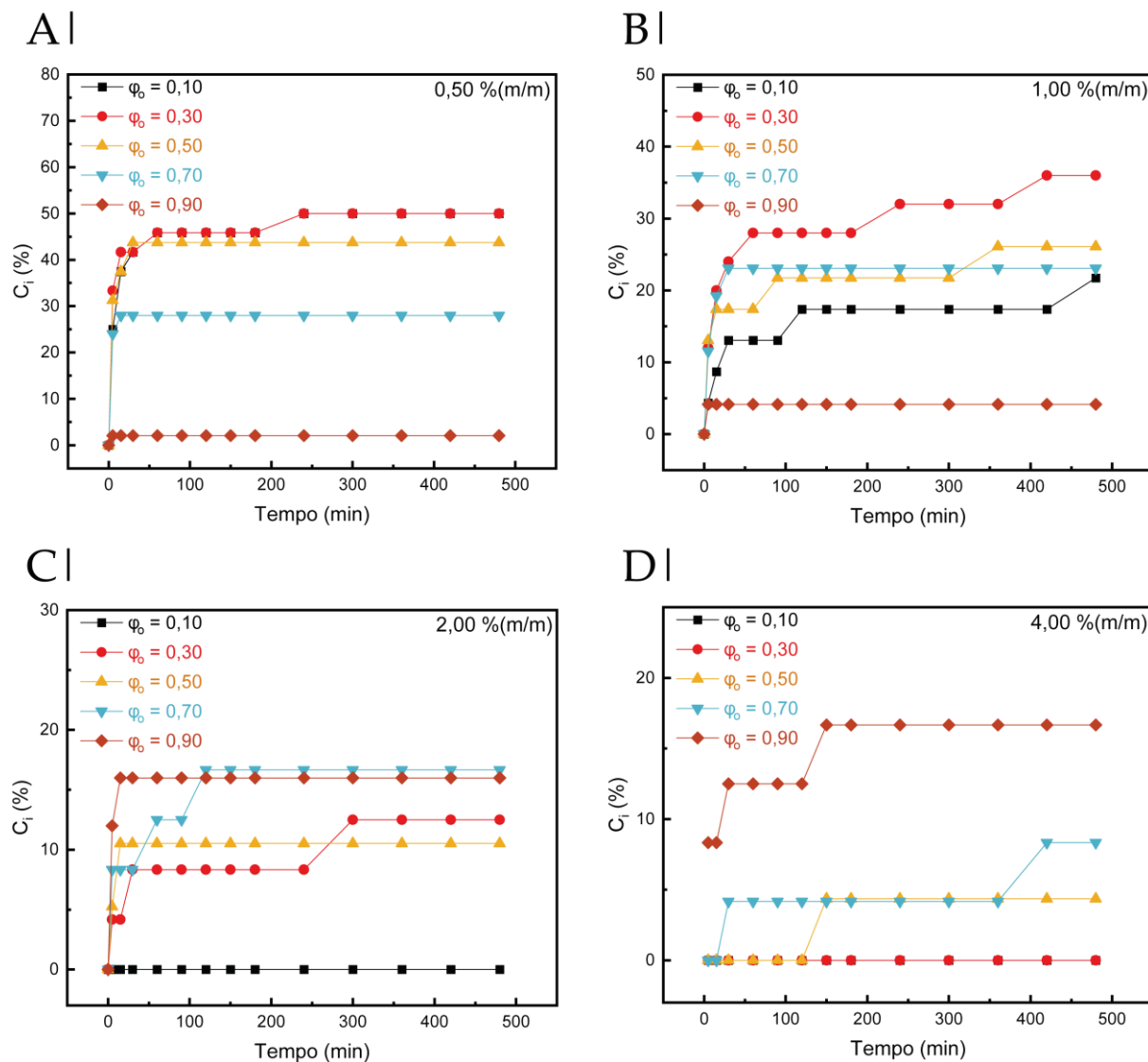


Figura 27 | Variação do índice de cremeação das emulsões de Pickering preparadas com HDL-Cl (frações óleo (ϕ_o) ímpares no intervalo 0,10-0,90) em função do tempo (0 a 480 min). Dispersões de HDL com concentração de A. 0,50; B. 1,00; C. 2,00; D. 4,00 % (m/m).

O valor constante adquirido por essas emulsões representa de forma gráfica aquilo que já foi discutido até aqui. Observa-se que os valores máximos de C_i atingidos diminuem com o aumento da concentração, sendo em torno de 50% para 0,50 % (m/m) frente aproximadamente 17% para 4,00 % (m/m). Entretanto, o comportamento para uma mesma fração óleo não segue sempre o mesmo padrão,

4 | Resultados e Discussão

efeito que pode ser mais facilmente observado na **Figura 28** que apresenta os índices de cremação para todas as frações óleo e concentrações estudadas.

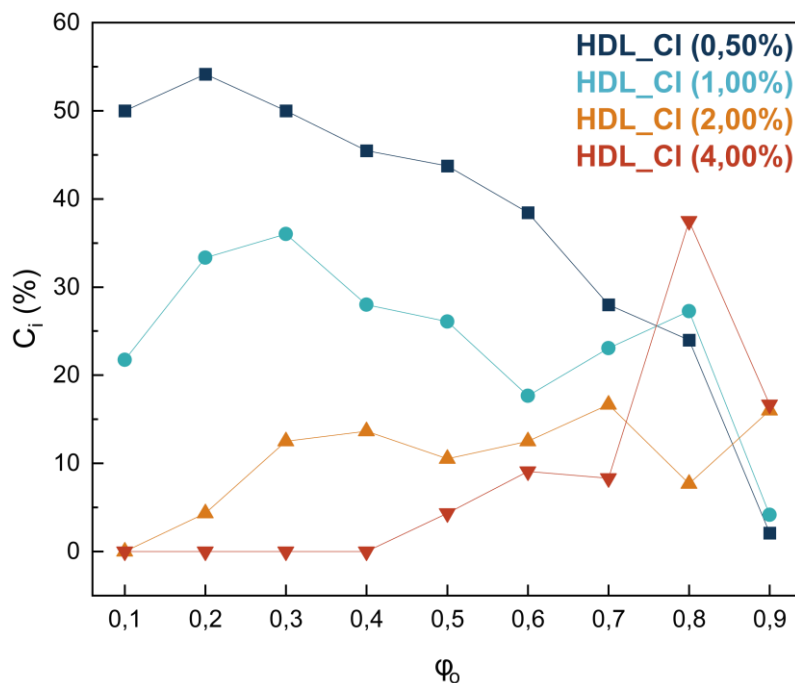


Figura 28 | Índice de cremação após 8 h para as emulsões de Pickering preparadas com HDL_C1 em diferentes concentrações.

Até $\phi_o = 0,70$, observa-se que a relação maior concentração da dispersão - menor índice de cremação (maior estabilidade) é obedecida, acima dele, em fração 0,80, há o início da inversão e em $\phi_o = 0,90$ a inversão está completa: as maiores concentrações atingem maiores C_i , enquanto as menores concentrações, os menores índices. Além disso, olhando o comportamento como um todo, as emulsões preparadas com dispersões em concentração 0,50 e 1,00 % (m/m) possuem um comportamento progressivo de diminuição do índice de cremação, enquanto para aquelas preparadas com dispersões em 2,00 e 4,00 % (m/m) o comportamento é de progressivo aumento, ainda que os maiores valores obtidos não se aproximem daqueles apresentados pelas emulsões preparadas em concentração menor.

4 | Resultados e Discussão

Em estudo de emulsões estabilizadas por HDL de Mg^{2+} e Al^{3+} (com íon Cl^- como intercalante e parafina como fase oleosa) e preparadas em agitador a 8000 rpm (YANG et al., 2006), observou-se o mesmo comportamento de C_i para as emulsões nas quais a concentração do estabilizante na dispersão era 0,50 e 1,00 % (m/m), atribuindo o aumento da estabilidade ao aumento da fração óleo devido ao aumento de viscosidade.

Nesse mesmo estudo, as emulsões cujos estabilizantes estavam em concentração 2,00 e 4,00 % (m/m) apresentaram o mesmo comportamento daqueles preparados em concentração mais diluída, diferente dos resultados relatados neste trabalho. Considerando variação no método de emulsificação e do método de síntese dos HDL e, por isso, a possibilidade da formação de emulsões cujas gotículas se unem por uma mesma camada de partículas (no presente trabalho), pode-se sugerir, então, que o comportamento frente ao índice de cremeação é modificado devido a possíveis mudanças na microestrutura. Isto é, a rede tridimensional de gotículas é observada para as emulsões preparadas com dispersões mais concentradas, enquanto para as dispersões mais diluídas esse efeito não ocorre. O aumento da fração óleo implica desestabilização dessa estrutura tridimensional devido ao inevitável aumento do diâmetro da gotícula de fase dispersa (como já discutido), que pode dificultar a formação dessa rede.

A **Figura 29** apresenta o aspecto das emulsões de Pickering preparadas utilizando o HDL_NBxn como estabilizante de fase. A coloração dessas emulsões é

4| Resultados e Discussão

característica do corante norbixina (alaranjado intenso) e há um aumento de sua intensidade com o aumento da concentração da dispersão, provavelmente devido à presença de mais material. Apenas com a inspeção visual, é possível verificar o efeito que o ânion orgânico na estrutura lamelar trouxe para as emulsões: a elevada estabilidade, uma vez que fenômenos de instabilidade (por cremeação ou sedimentação) só se tornam evidentes em fração óleo superior a 0,70 e vão diminuindo com o aumento da concentração.

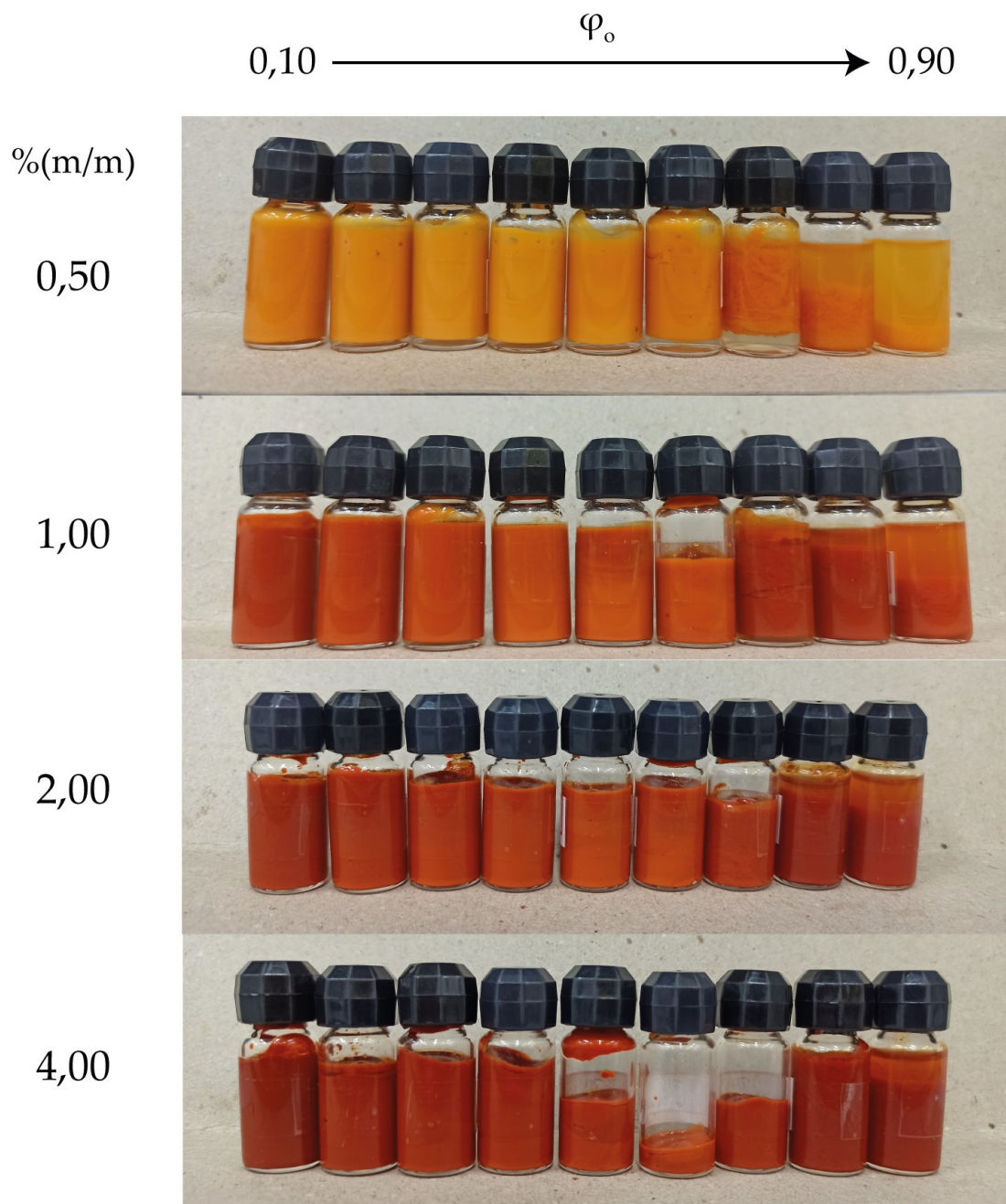


Figura 29 | Aspecto visual das emulsões de Pickering que foram feitas utilizando HDL_NBxn como estabilizante (após 8 h de preparo).

Os frascos da imagem que possuem menor volume que os demais foi devido à dificuldade de transferência do frasco de sonicação para o de estocagem. Algumas imagens da microestrutura das emulsões, obtidas por meio da técnica de microscopia óptica, para as mesmas frações apresentadas para os sistemas estabilizados por

4| Resultados e Discussão

HDL_Cl, são apresentadas na **Figura 30**. As demais frações estão na **Figura A6**, em anexo.

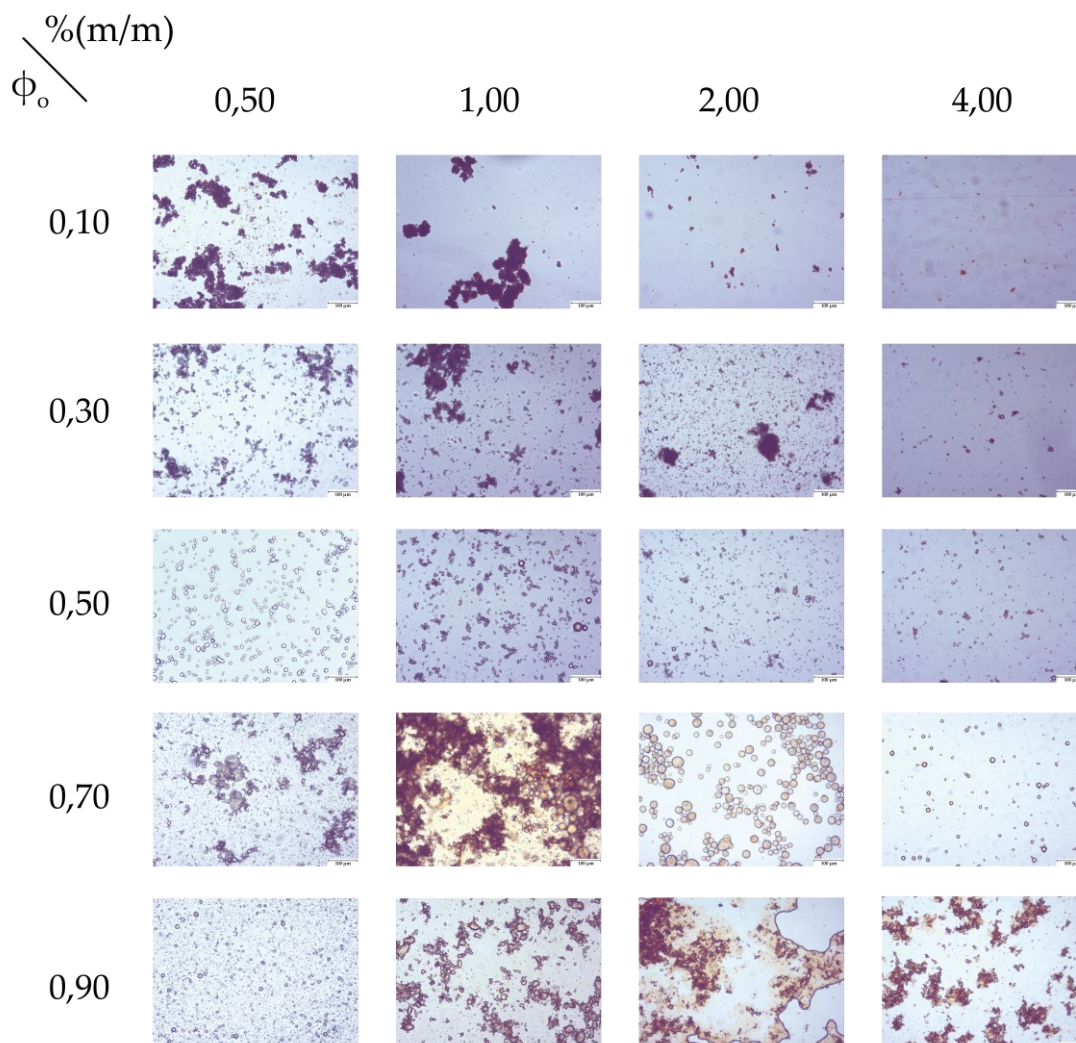


Figura 30 | Imagens de microscopia óptica obtidas para as emulsões de Pickering estabilizadas com HDL_NBxn em função da concentração (0,50 – 4,00 % (m/m)) e fração óleo (ϕ_o 0,10-0,90, frações ímpares). Todas as imagens foram obtidas com a objetiva de 10 vezes.

De maneira geral, os efeitos observados tanto para a variação da concentração em fração óleo fixa, quanto para variação da fração óleo em concentração fixa, são os mesmos que aqueles descritos e discutidos para as emulsões estabilizadas com HDL_Cl. Entretanto, algumas importantes diferenças também podem ser notadas. Em primeiro lugar, deve ser ressaltado que mesmo em baixa concentração de

4 | Resultados e Discussão

HDL_NBxn, a formação de aglomerados de gotículas já ocorre e, não só, mesmo nessas condições as gotículas de fase dispersa já são pequenas (especialmente se comparadas com as gotículas apresentadas pelas emulsões estabilizadas por HDL_C1 nas mesmas condições (**Figura 25**)), já que sua identificação na magnificação mostrada não é tão evidente quanto o outro sistema.

Para melhor visualização, a **Figura 31** apresenta diferentes magnificações para uma mesma amostra (com mesma fração óleo e concentração da dispersão utilizada em todas as imagens). É possível verificar como os aglomerados são também formados por pequenas gotículas de fase óleo que não coalesceram (**Figura 31B e C**) e, provavelmente, compõem uma estrutura tridimensional formada por gotículas de óleo estabilizadas por camadas de partículas sólidas em comum, semelhante ao que foi observado para emulsões estabilizadas com HDL_C1 em elevada concentração, porém aqui evidente mesmo em concentração igual a 0,50 % (m/m). Em conjunto com a formação dessa estrutura, é necessário ressaltar, também, o tamanho reduzido das gotículas de fase dispersa. A **Figura 31D** mostra como mesmo em maior magnificação é possível verificar a existência de gotas que podem chegar a ter aproximadamente 2 μm de diâmetro.

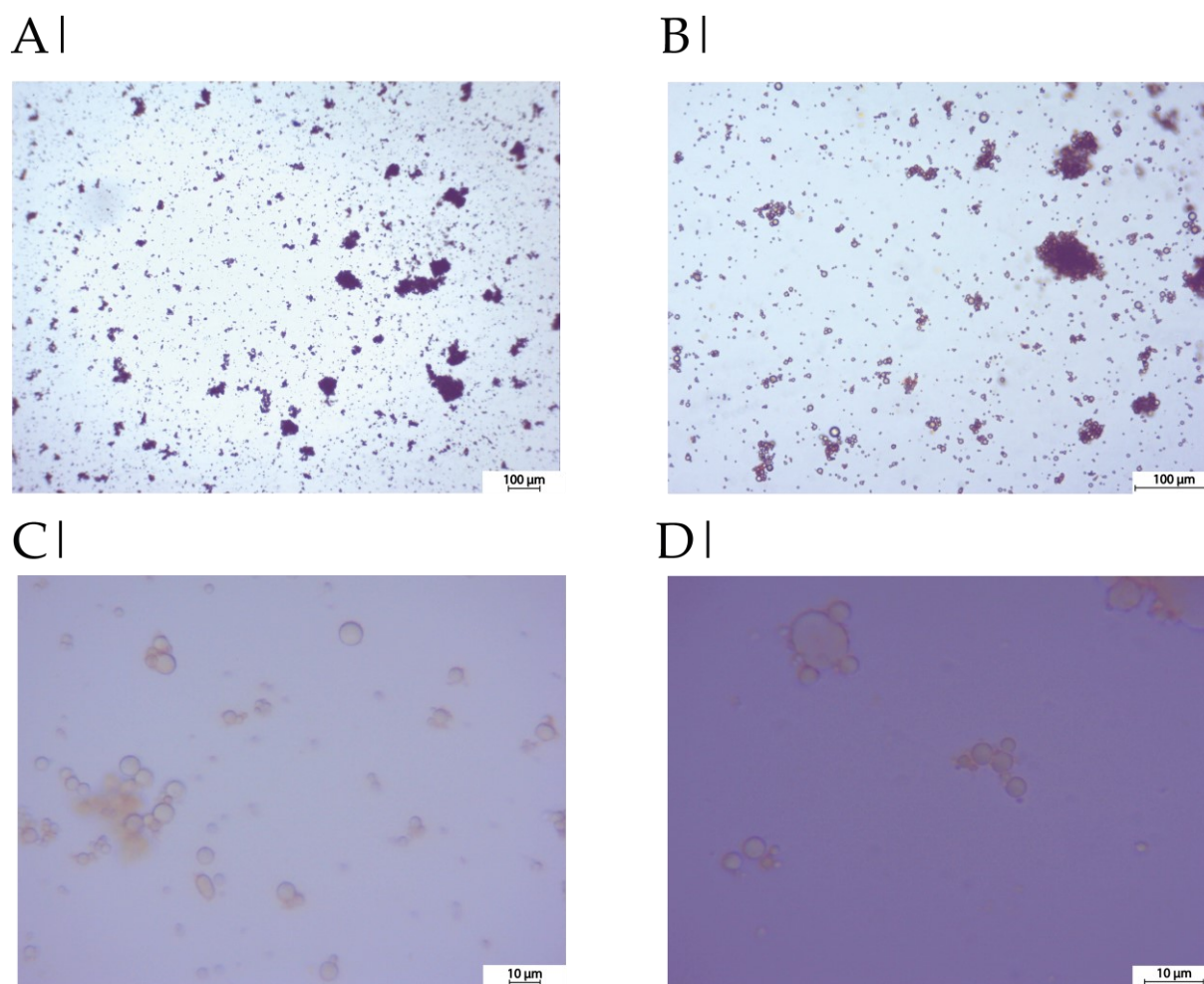


Figura 31 | Emulsão de Pickering estabilizada por HDL_NBxn 2,00 % (m/m) e fração óleo (ϕ_o) 0,40 em diferentes magnificações. **A.** Imagem obtida com objetiva de 4 vezes; **B.** Imagem obtida com objetiva de 10 vezes; **C.** Imagem obtida com objetiva de 40 vezes; **D.** Imagem obtida com objetiva de imersão.

Além disso, ressalta-se como é possível verificar a existência de estruturas mesmo para as maiores frações óleo, tanto em baixa quanto (e especialmente) em alta concentração. Para $\phi_o = 0,90$, observa-se que a partir da concentração da dispersão igual a 1,00 % (m/m), é possível identificar aglomerados bastante evidentes, de forma que se pode sugerir que a presença do ânion orgânico alterou de forma significativa a interação do material com a fase óleo, especialmente considerando o seu caráter hidrofóbico apresentado nos ensaios de ângulo de contato. Já para $\phi_o = 0,70$, a principal diferença está no fato de que, mesmo em baixa concentração (HDL_NBxn

4 | Resultados e Discussão

em 0,50 % (m/m)), a presença de gotículas de fase dispersa (ainda que aglutinadas) é mais evidente que a emulsão estabilizada por amostra de HDL_Cl equivalente.

A estabilidade apresentada pelas emulsões está representada de forma gráfica ao longo do tempo para algumas frações óleo e para todas as concentrações na **Figura 32**, enquanto que para todas as frações óleo, após 8 h de preparo, na **Figura 33**. Assim como observado para as emulsões estabilizadas por HDL_Cl, aqui se vê o mesmo comportamento de aumento da estabilidade frente à cremeação com o aumento da concentração das dispersões utilizadas no preparo. Para as concentrações 0,50 e 1,00 % (m/m), é interessante destacar como há uma expressiva redução do valor do índice, indo de 82,6 para 45,8 % ($\phi_o = 0,90$) e de 16,7 para 4,2 % ($\phi_o = 0,70$). Além disso, pode-se verificar que o intervalo de tempo necessário para que se atinja o maior valor de índice para a fração 0,90 é bastante diferente entre essas concentrações, sendo de 60 min para concentração de HDL igual a 0,50 % (m/m) e 300 min para 1,00 % (m/m).

Para as emulsões preparadas com dispersões em concentração acima de 1,00 % (m/m), apenas a fração óleo 0,90 apresenta evolução do comportamento de sedimentação (aqui representado pelo índice de cremeação para facilitar a comparação entre os sistemas), uma vez que as demais frações apresentam tal valor igual a 0. Além disso, é interessante notar que para $\phi_o = 0,90$ há um aumento no intervalo de tempo necessário para atingir a região de constância no valor de C_i .

4| Resultados e Discussão

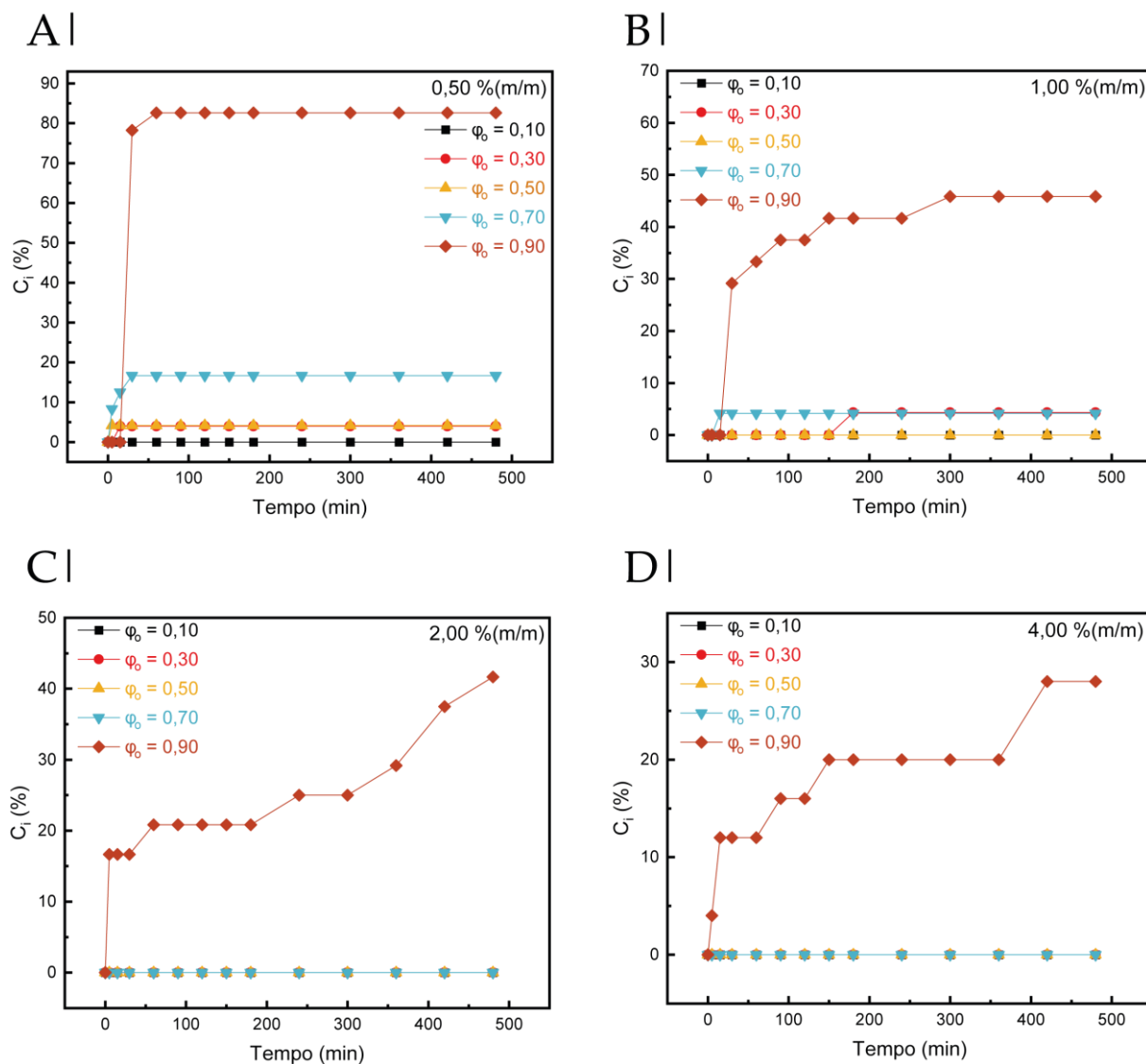


Figura 32| Variação do índice de cremeação das emulsões de Pickering preparadas com HDL_NBxn (frações óleo (φ_o) ímpares no intervalo 0,10-0,90) em função do tempo (0 a 480 min). Dispersões de HDL com concentrações iguais a **A.** 0,50; **B.** 1,00; **C.** 2,00; **D.** 4,00 % (m/m).

O comportamento observado ao se comparar o índice de cremeação após 8 h para todas as frações óleo e concentrações é condizente com o esperado. Verifica-se que com o aumento da concentração da dispersão de HDL, o número de amostras que apresentaram $C_i = 0\%$ aumenta progressivamente, saindo de apenas duas frações (0,10 e 0,20) para 0,50 % (m/m) de HDL, até oito frações (0,10 – 0,80) para o 4,00 % (m/m) de HDL. Além disso, diferentemente do observado para o HDL_Cl, o

4 | Resultados e Discussão

comportamento geral é semelhante em todas as condições, isto é, a maior concentração da dispersão sempre apresenta maior estabilidade, ao passo que a menor concentração, a menor estabilidade. Além disso, observa-se o crescimento do valor do índice de cremeação acompanhar o aumento da quantidade de fase óleo (ϕ_o) presente.

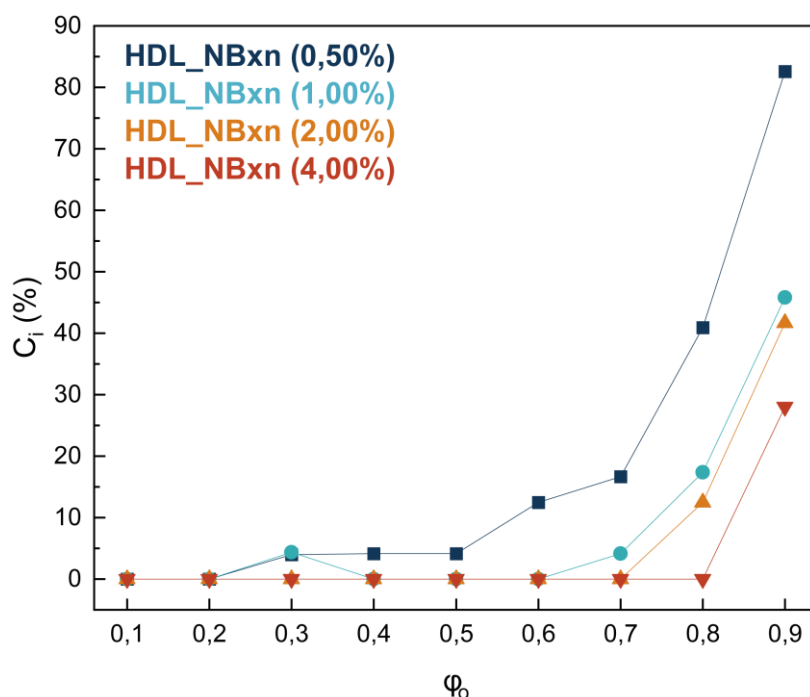


Figura 33 | Índice de cremeação após 8 h para as emulsões de Pickering preparadas com HDL_NBxn em diferentes concentrações.

Os resultados apresentados nesta seção mostram que a presença do ânion orgânico influenciou de forma significativa na estabilidade e na microestrutura das emulsões. Mesmo em baixas concentrações, uma elevada estabilidade frente à cremeação já foi observada, assim como há evidência de formação de estrutura tridimensional de gotículas de tamanho variado unidas pela ação do estabilizante como uma ponte. Assumindo que essa estrutura seja plausível, a literatura (LEE; CHAN; MOHRAZ, 2012) relata que ela é a grande responsável pela elevada

4 | Resultados e Discussão

estabilidade, como já discutido, e pela atribuição de característica gel às emulsões. De fato, como será explorado na seção seguinte, tal comportamento foi observado.

4.3.3 | Influência do íon intercalado na matriz de HDL

A **Figura 34** apresenta, de forma comparativa, os índices de cremação para as emulsões estabilizadas com HDL_CI e com HDL_NBxn, em todas as concentrações trabalhadas. Como tal a influência do íon nessa propriedade já foi discutida, essa figura se faz presente apenas para ilustrar de forma mais direta as diferenças entre os sistemas. É interessante ressaltar o comportamento oposto dos índices em função da fração óleo para as menores concentrações de material (**Figura 34A**) e como o aumento faz com que tal comportamento se assemelhe (**Figura 34B**).

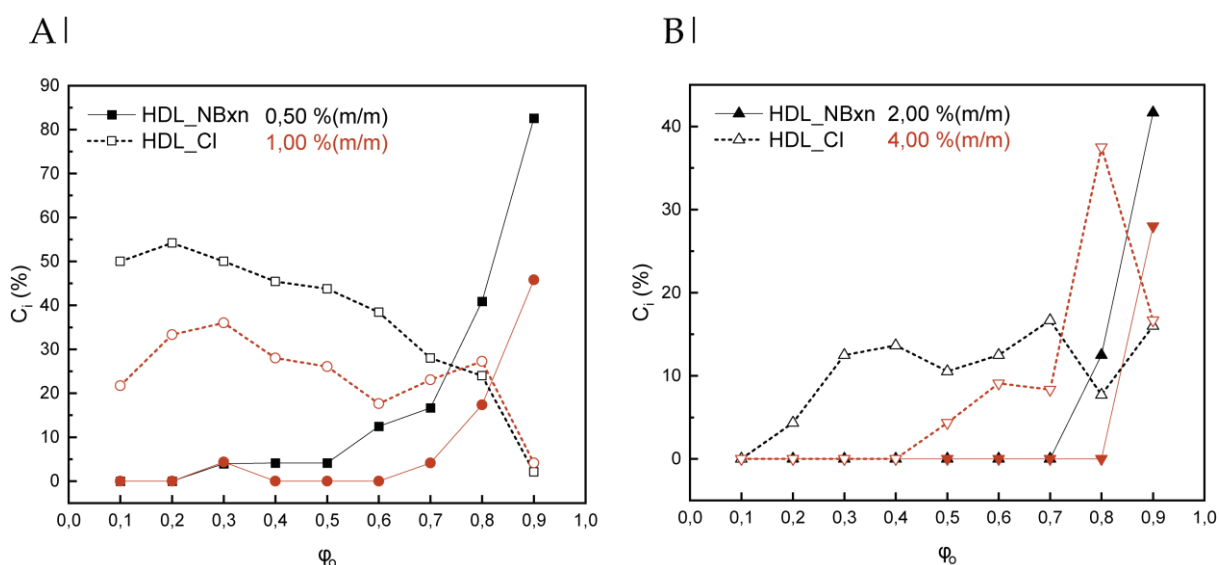


Figura 34 | Índice de cremação após 8 h, de forma comparativa, das emulsões de Pickering preparadas com HDL_CI (símbolos abertos) e HDL_NBxn (símbolos preenchidos) nas concentrações: **A.** 0,50 e 1,00 % (m/m); **B.** 2,00 e 4,00 % (m/m).

A formação de uma rede tridimensional de estabilização das gotículas, como proposto anteriormente, traria a elevada estabilidade frente à cremação, como observado com o aumento da concentração das partículas, e se reduziria a

4| Resultados e Discussão

coalescência das gotículas, isto é, elas, apesar de próximas, não se transformariam numa só, com aumento de tamanho (AAEN et al., 2019). A **Figura 35** apresenta imagens obtidas por meio de microscopia óptica para uma mesma fração óleo em diferentes concentrações e com 21 dias de intervalo de tempo. Nela, é possível verificar de forma qualitativa que em baixa concentração (0,50 % (m/m)), as gotículas aumentam de tamanho (ou seja, coalescem), ao passo que em elevada concentração (4,00 % (m/m)) esse fenômeno não é evidente.

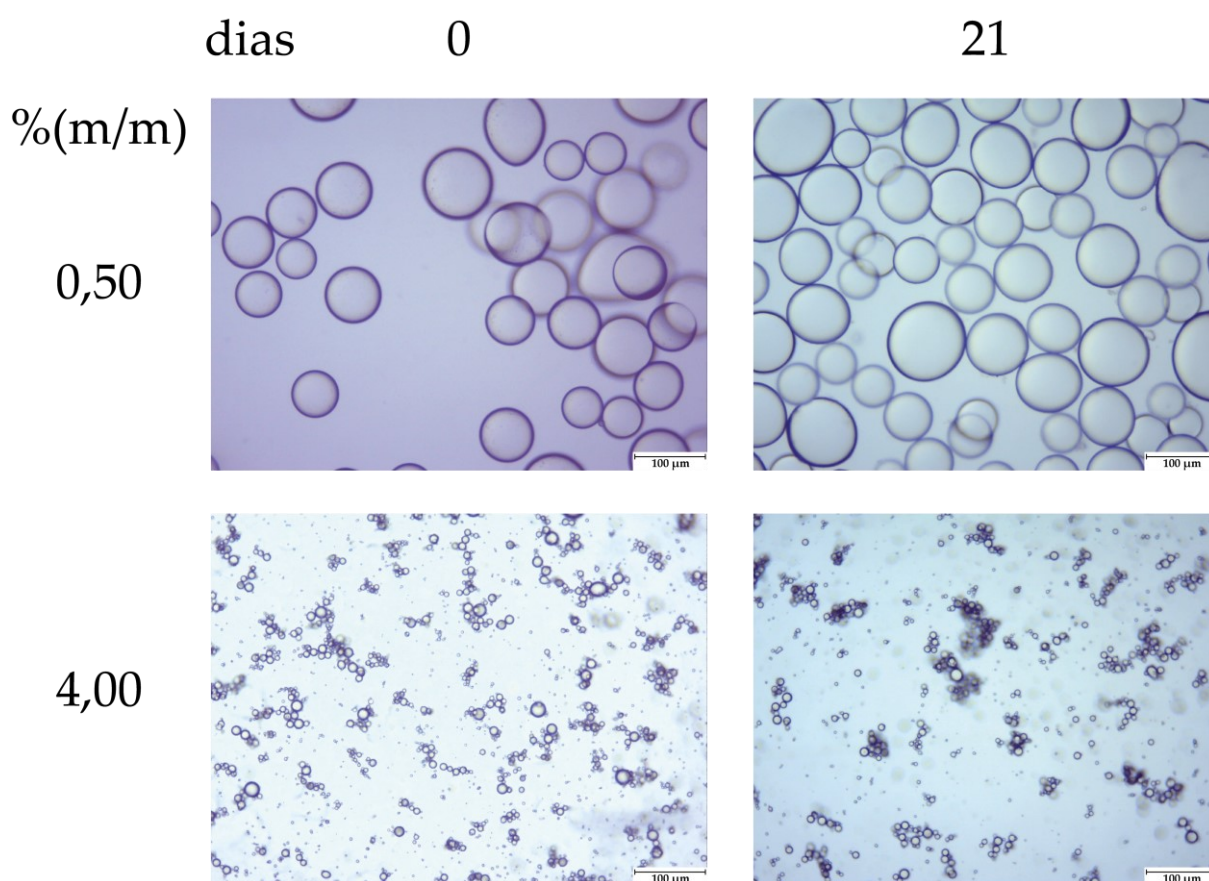


Figura 35 | Imagens de microscopia óptica obtidas para emulsões de Pickering preparadas com HDL_Cl em duas concentrações e com 21 dias de intervalo, para fração óleo (ϕ_o) 0,50. Imagens obtidas com objetiva de aumento de 10 vezes.

Medidas de reologia oscilatória em uma amostra recém preparada e uma amostra preparada há 28 dias (**Figura 36**), de emulsão com estabilizante HDL_Cl em

4 | Resultados e Discussão

concentração igual a 4,00 % (m/m), corroboram para essa interpretação. Uma vez que os perfis observados são semelhantes tanto para G' (módulo de armazenamento) quanto para G'' (módulo de perda), verifica-se como mesmo após elevado intervalo de tempo a microestrutura da emulsão não sofreu nenhum tipo de alteração relevante. Além disso, observa-se que há comportamento gel em baixa tensão de cisalhamento ($G' > G''$), seguido de um ponto de mudança ($\tau > 10$ Pa), onde $G' < G''$, indicando escoamento (KAGANYUK; MOHRAZ, 2017).

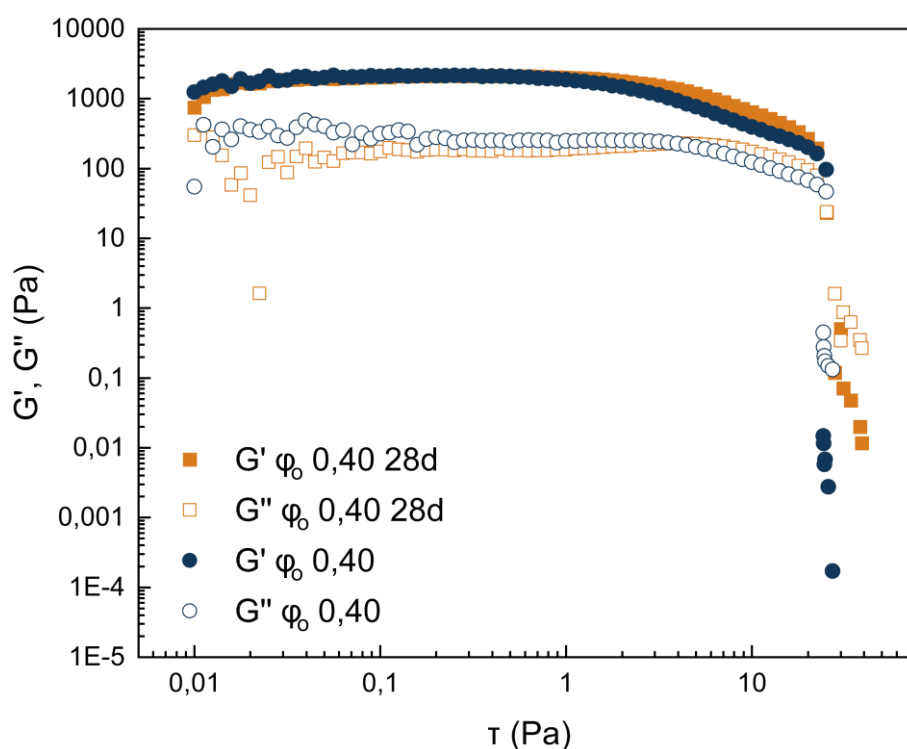


Figura 36 | Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude para amostra de emulsão estabilizada com HDL-Cl em 4,00 % (m/m) e fração óleo (ϕ_0) 0,40 recém preparada (círculos) e após 28 dias (quadrados).

O comportamento gel dessas estruturas é justificado com a formação da rede de gotículas unidas entre si por uma (ou mais) camada(s) dos materiais que acabam servindo como ponte entre uma gota e outra, como já sugerido na análise das estruturas por microscopia óptica. Porém, como foi comentado, não se sabia qual era

4 | Resultados e Discussão

o efeito da diluição sobre essa estrutura. Imagens sem a realização da diluição, obtidas por meio da microscopia confocal (**Figura 37**) atestam sua existência. Para a emulsão preparada com HDL_Cl (**Figura 37A**), verifica-se certa uniformidade nos tamanhos das gotículas e, também, distorções da forma esférica características da formação de ponte (LEE; CHAN; MOHRAZ, 2012). No caso da emulsão preparada com HDL_NBxn (**Figura 37B**), observa-se elevada variação do tamanho das gotículas que compõem a estrutura.

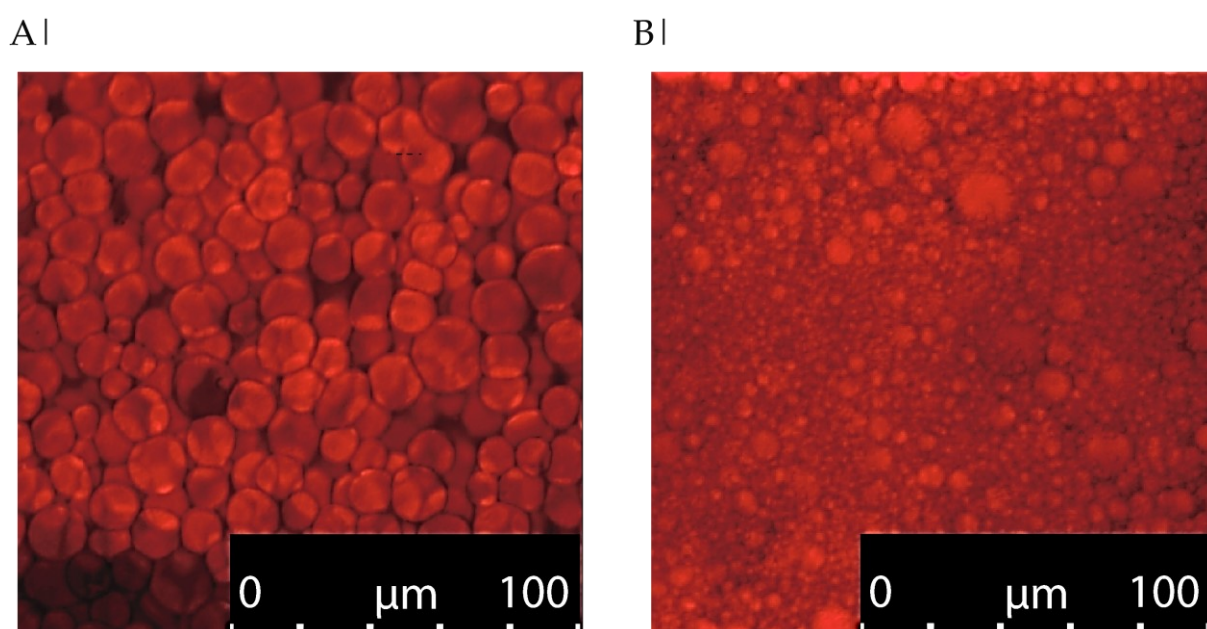


Figura 37 | Imagens de microscopia confocal para as emulsões recém preparadas, com o HDL em concentração igual a 4,00 % (m/m) e fração óleo (ϕ_o) 0,40, fase óleo colorida com corante vermelho do Nilo. **A.** HDL_Cl; **B.** HDL_NBxn.

A variação da microestrutura influencia o comportamento do gel frente à aplicação de tensão, como verificado na **Figura 38**. Nela, apresenta-se os perfis reológicos obtidos em ensaios nos quais a frequência de oscilação foi mantida constante em 1 Hz e a tensão de cisalhamento aplicada foi variada, medindo-se a resposta do sistema em G' (módulo de armazenamento) e G'' (módulo de perda) (**Figura 38A e B**, apenas para G' ; o perfil que mostra ambos os parâmetros está em

4 | Resultados e Discussão

anexo, **Figura A7** para HDL_CI, e **Figura A8** para HDL_NBxn), assim como parâmetros extraídos dessas curvas (**Figura 38C e D**).

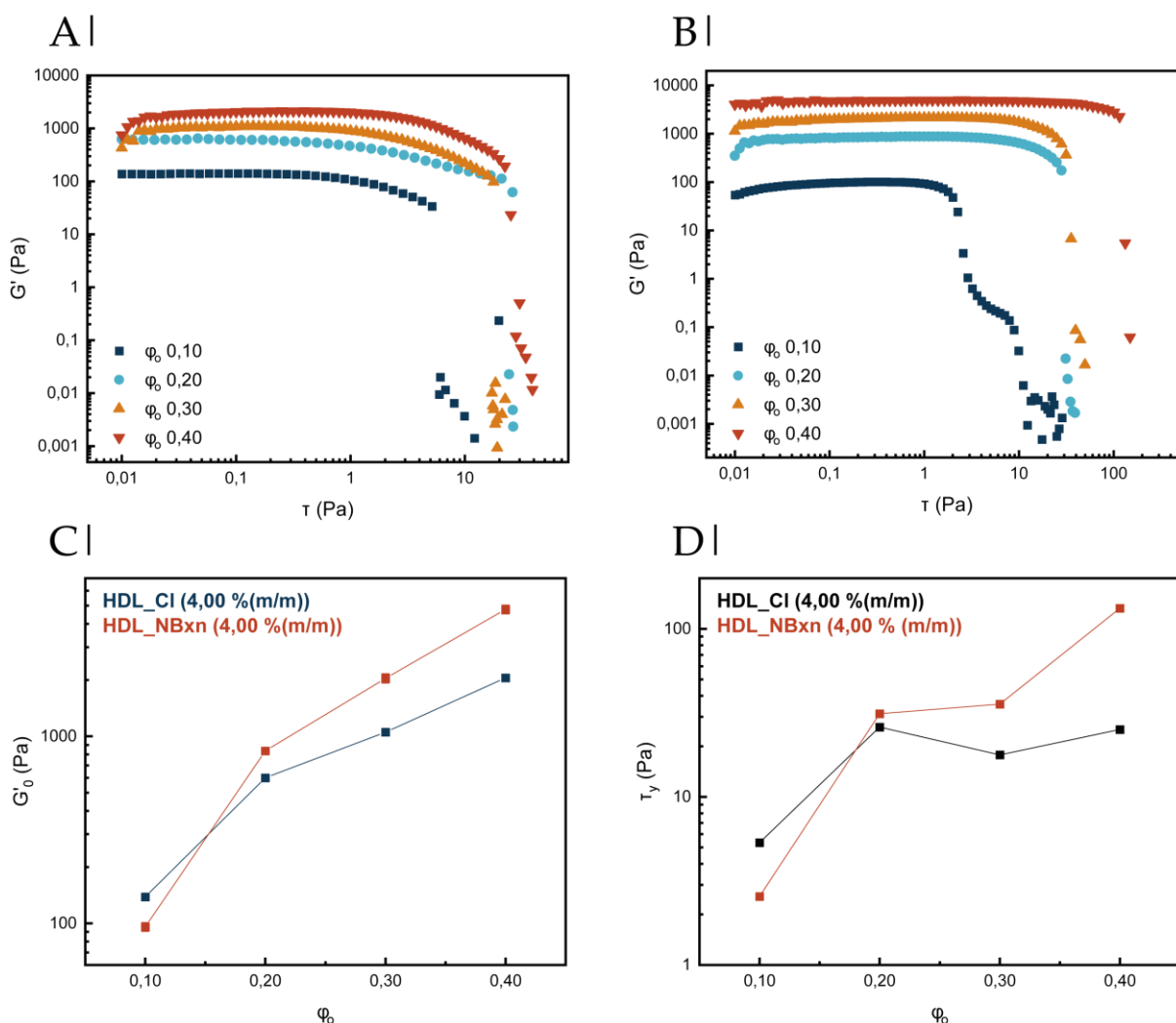


Figura 38 | Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude e parâmetros retirados. (A-B) Perfil reológico obtido para emulsão de Pickering preparada com HDL em concentração 4,00 % (m/m) A. HDL_CI; B. HDL_NBxn; (C-D) Parâmetros retirados dos perfis C. G'_0 ; D. τ_y .

G'_0 é o módulo elástico em cisalhamento nulo (*zero-shear elastic modulus*) definido como o valor médio obtido na região de viscoelasticidade linear, isto é, a região do perfil reológico em que a variação da tensão de cisalhamento aplicada não causa variação nos valores de G' (e G''), e representa o caráter sólido (capaz de absorver energia) do sistema viscoelástico; τ_y é a tensão mínima de escoamento (*yield*

4 | Resultados e Discussão

stress), ou seja, a tensão acima da qual o sistema passa a se comportar mais como um fluido do que como um sólido ($G' < G''$), e representa a tensão que rompe a estrutura gel da emulsão. Ambos parâmetros são comumente utilizados para estudar emulsões de Pickering que apresentam essa característica (KAGANYUK; MOHRAZ, 2017; LEE; CHAN; MOHRAZ, 2012).

Tanto G'_0 quanto τ_y aumentaram com o aumento das frações óleo, para os dois sistemas estudados. Observa-se que, para $\phi_o = 0,10$, a emulsão estabilizada com HDL_Cl possui maiores módulo de armazenamento e tensão mínima de escoamento, ou seja, ela é capaz de absorver mais energia e, também, possui uma estrutura que suporta maior tensão antes de ser rompida. Para todas as frações óleo estudadas acima desse valor, porém, as emulsões preparadas com HDL_NBxn apresentam valores maiores.

Nas tendências de crescimento observadas, é interessante ressaltar que, nas emulsões preparadas com os materiais com norbixinato, os valores variam de forma expressiva de uma fração óleo para outra. Nessas emulsões, em $\phi_o = 0,20$, $G'_0 = 835,86$ Pa, enquanto para fração óleo 0,40, tal valor é 4774,79 Pa (aproximadamente 5,7 vezes maior); já para as emulsões estabilizadas com HDL_Cl, $G'_0 = 599,69$ Pa para fração 0,20 e 2054,34 Pa para a fração 0,40 (aproximadamente 3,4 vezes maior). Para τ_y o efeito do íon é ainda mais evidente: quando $\phi_o = 0,20$, $\tau_y = 31,24$ Pa, ao passo que em $\phi_o = 0,40$, ele é 132,62 Pa (aproximadamente 4,24 vezes maior para o HDL_NBxn);

4| Resultados e Discussão

para o HDL_Cl, tais valores são 26,04 e 25,19 Pa, respectivamente. Assim, a presença do íon orgânico altera tanto a estrutura quanto o caráter sólido da emulsão.

Outras composições de HDL_NB_{xn} apresentaram comportamento gel e tal comportamento foi facilmente observado pelo teste de inversão dos frascos no que as emulsões estavam estocadas (**Figura 39**). É evidente que tanto a concentração da dispersão de HDL quanto a fração óleo influenciam na existência ou não de comportamento gel: com dispersão em concentração de 2,00 ou 4,00 % (m/m) apenas duas frações óleo não mostram tal característica, ao passo que em 0,50 % (m/m) apenas duas apresentam.

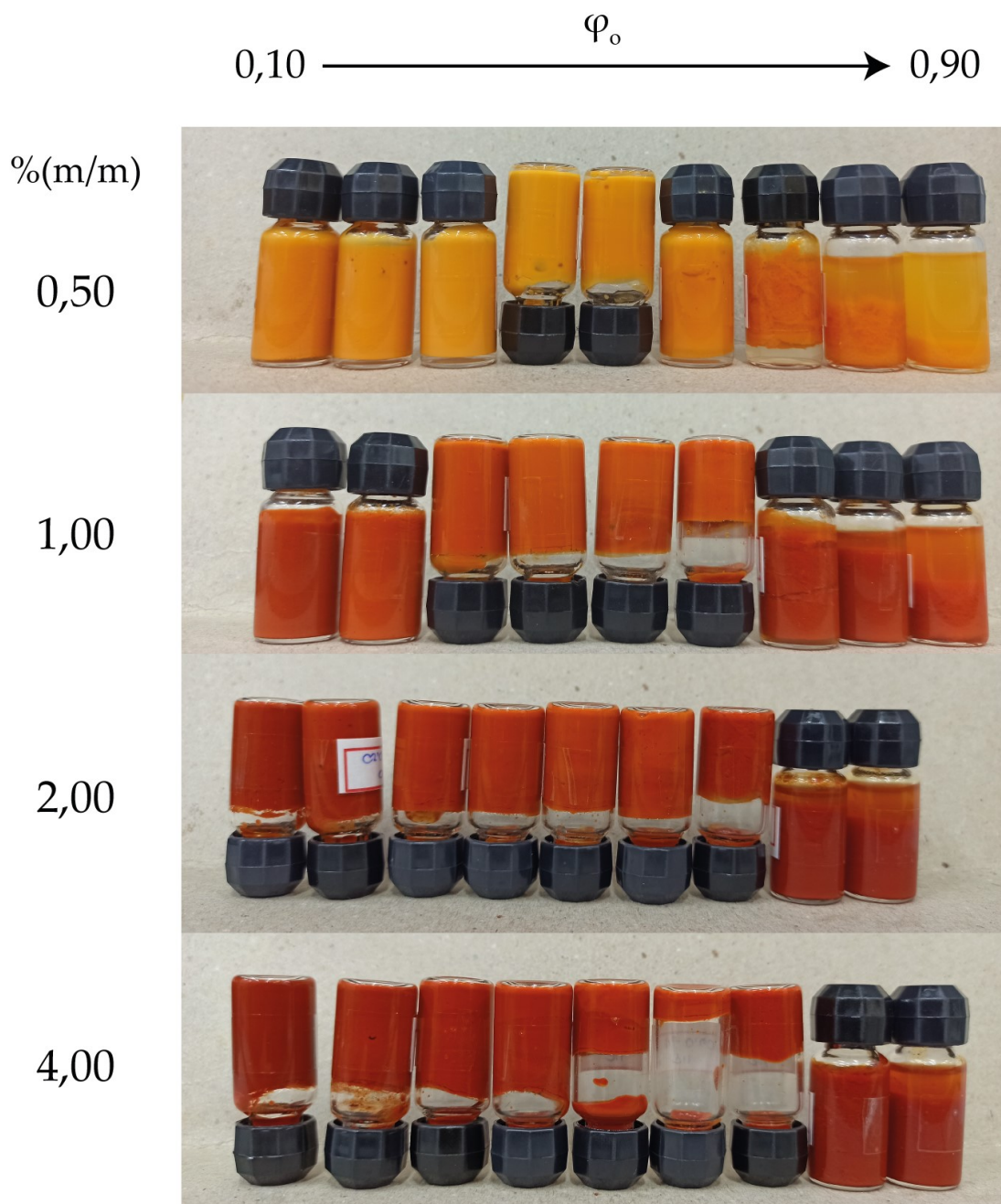


Figura 39 | Teste de inversão do frasco para verificar quais emulsões de Pickering preparadas com HDL_NBxn apresentavam comportamento de gel.

Uma vez que tanto a concentração da dispersão quanto a fração óleo influenciam no tamanho das gotículas que compõem a microestrutura da emulsão, é possível supor que as propriedades reológicas mostradas pelos géis seriam diferentes. De fato, os resultados das medidas de reologia (**Figura 40**) mostram que

4| Resultados e Discussão

ambos os fatores influenciam no comportamento deles frente à variação da tensão de cisalhamento. Os perfis reológicos que apresentam tanto G' quanto G'' para as emulsões caracterizadas estão em anexo (**Figura A8–Figura A11**), em conjunto com a variação dos parâmetros G'_0 e τ_y em função da concentração (**Figura A12**).

Os valores obtidos de G'_0 (**Figura 40E**) mostram que o aumento da fração óleo, para todas as concentrações, implica, também, seu aumento. Além disso, para uma mesma quantidade de óleo presente, a ordem de crescimento de valores para o módulo elástico segue o aumento de concentração. Considerando que a estrutura de gotículas unidas entre si, responsável pelo comportamento gel, depende da quantidade de óleo para se tornar fase dispersa e de material suficiente para recobrir as gotas, o comportamento observado condiz com o esperado: obtém-se estrutura mais rígida (maior caráter sólido) em elevadas quantidade de óleo e concentração da dispersão de estabilizante, pois assim a rede formada tem mais pontos de contato (maior quantidade de gotículas, de tamanho variado como já apresentado) rodeadas por quantidade suficiente de material (maior concentração de material) que impede sua coalescência.

4 | Resultados e Discussão

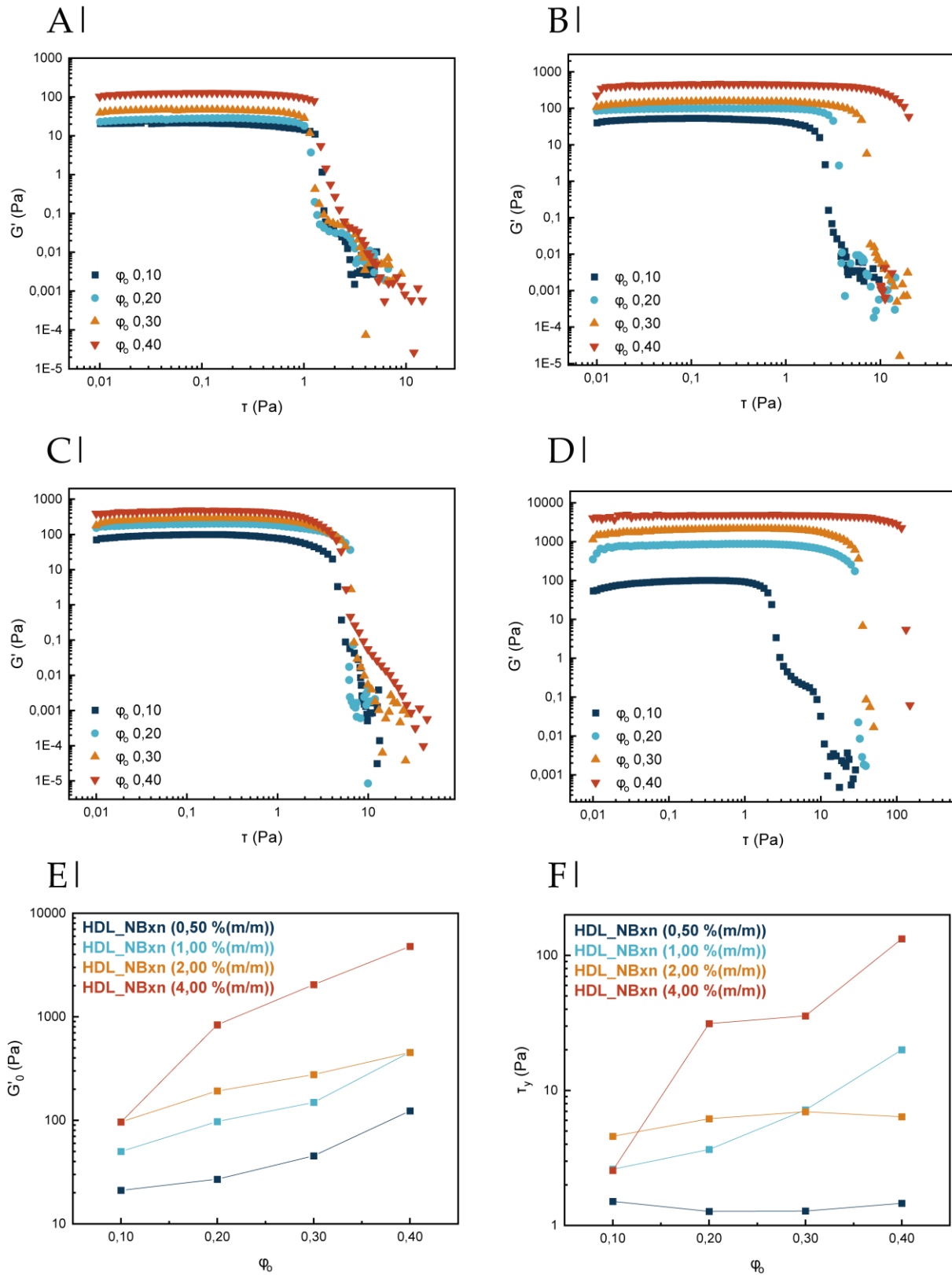


Figura 40 | Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude e parâmetros retirados. (A-D) Perfil reológico obtido para emulsão de Pickering preparada com HDL_NBxn em diferentes concentrações (% (m/m)) A. 0,50; B. 1,0; C. 2,00; D. 4,00; (E-F) Parâmetros retirados dos perfis E. G'_0 ; F. τ_y .

4| Resultados e Discussão

O comportamento da tensão mínima de escoamento, por outro lado, não apresenta uma tendência tão evidente como o módulo elástico em tensão de cisalhamento nula. A **Figura 40F** mostra que, para as dispersões de HDL_NBxn em concentração igual a 1,00 e 4,00 % (m/m), o aumento da fração óleo implica aumento de τ_y , ao passo que para as concentrações 0,50 e 2,00 % (m/m), tal aumento não altera de forma significativa o comportamento dessa propriedade. Assim, a estrutura se torna mais resistente à tensão de cisalhamento com o aumento da concentração apenas para a fração óleo 0,20 (em fração 0,10 também, porém desconsiderando a emulsão preparada com a maior concentração da dispersão de HDL); quando acima desse valor, há uma inversão: as emulsões preparadas com material em concentração 1,00 % (m/m) são mais resistentes que aquelas preparadas com a dispersão em 2,00 % (m/m).

Zhang, Zhang e Sun (ZHANG; ZHANG; SUN, 2015) obtiveram sistemas gelificados de emulsões de Pickering preparados com HDL intercalado com íon DS e não observaram influência da fração óleo em nenhuma das propriedades estudadas (G' e τ_y), atribuindo a alteração do comportamento gel apenas a variações na concentração das dispersões utilizadas. Ainda que a relação fração óleo – concentração de partículas não seja tão bem comportada nos resultados de τ_y aqui relatados, é possível perceber que a resistência da rede tridimensional que caracteriza o gel formado depende também da quantidade de óleo, já que há um aumento de

4| Resultados e Discussão

aproximadamente 6,64 vezes ao se comparar os dois maiores valores do parâmetro em $\phi_0 = 0,40$.

A fim de verificar se apenas o ânion norbixinato é capaz de formação de sistemas com propriedade gel, preparou-se emulsões (nas mesmas condições em que se preparou as emulsões de Pickering) em que a fase aquosa era uma solução de norbixinato de sódio (1,28 % (m/m)), em concentração aproximadamente equivalente àquela presente na dispersão de HDL_NBxn 4,00 % (m/m), considerando o teor de carbono no sólido caracterizado (Seção 4.2.2). A **Figura 41** apresenta o aspecto visual dos sistemas preparados após 8 h de repouso.

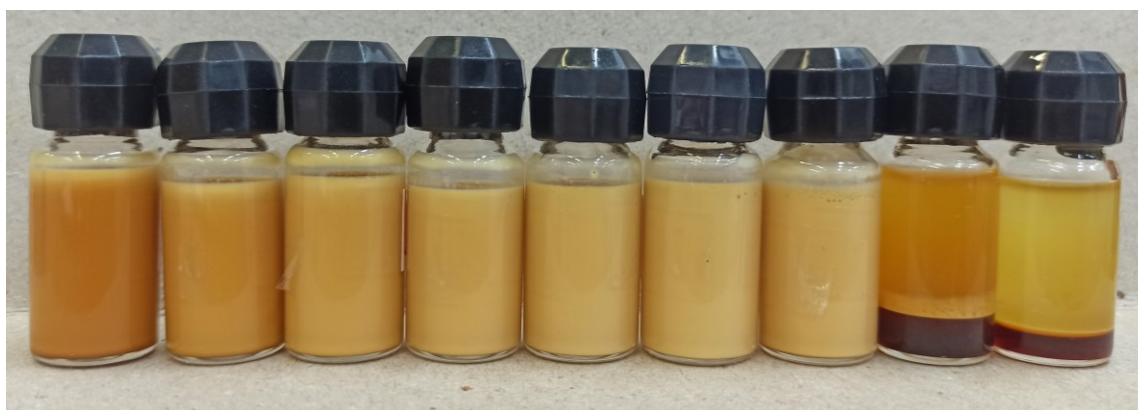


Figura 41 | Aspecto visual para as emulsões preparadas com norbixinato de sódio (Na_2NBxn) após 8 h de repouso. $\phi_0 = 0,10$ (esquerda) e $0,90$ (direita), aumentando em $0,10$ para cada frasco.

A inspeção dos frascos permite verificar que, até $\phi_0 = 0,70$, não há separação de fases e, por isso, os sistemas apresentam elevada estabilidade frente à cremeação, assim como observado para as emulsões de Pickering preparadas com HDL_NBxn em concentração igual a 4,00 % (m/m). Porém, mediante teste de inversão de frasco (não mostrado) não se observou comportamento gel e, por isso, medidas de reologia não foram realizadas.

4 | Resultados e Discussão

A visualização das gotículas de fase dispersa por meio da técnica de microscopia óptica não foi possível devido à reduzida dimensão que elas apresentaram. Dessa forma, como mostrado na **Figura 42**, tal característica foi mensurada utilizando a técnica de DLS.

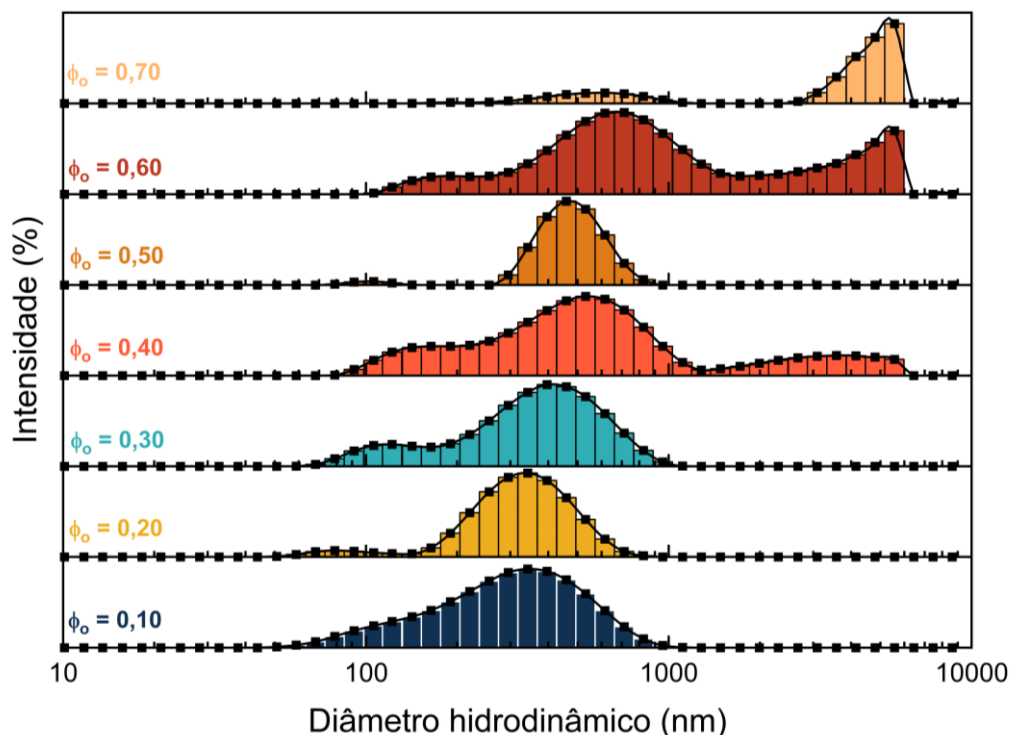


Figura 42 | Variação do diâmetro hidrodinâmico das gotículas de fase dispersa em função da fração óleo presente na emulsão apenas para as frações óleo (ϕ_o) que não apresentaram separação de fase. As amostras sofreram diluição de 1000 vezes em água para medição.

Assim como foi observado para as emulsões de Pickering descritas anteriormente, aqui se verifica que há aumento do tamanho das gotículas conforme há aumento da quantidade de óleo presente no sistema. Ainda, conforme relatado na literatura (LOW et al., 2020), é possível verificar como o procedimento de ultrasonicação para o preparo de emulsões gera gotículas de tamanho variado, de forma que a população tem distribuição de tamanhos pouco uniforme. Tal efeito é bastante evidente para $\phi_o = 0,40$ e $0,60$, onde não há evidente separação entre as

4 | Resultados e Discussão

populações de tamanho diferente e o diâmetro hidrodinâmico varia de 100 a 6000 nm.

Considerando o reduzido tamanho das gotículas e a ausência da propriedade gel nas emulsões preparadas com Na_2NBx_n , algumas sugestões podem ser feitas. É a interação do íon orgânico com a matriz lamelar a responsável por gerar emulsões com elevada estabilidade frente à cremeação e atribuir característica de gel. A elevada estabilidade é, provavelmente (porém não somente), efeito do ânion norbixinato, já que as emulsões preparadas apenas com ele apresentaram, também, elevada estabilidade, ao passo que a sinergia entre a elevada estabilização da fase dispersa com seu recobrimento por HDL, onde as partículas sólidas geram, ao agirem como ponte, a rede de gotículas (mono- ou multicamadas) responsável pela propriedade gel. Tal efeito está representado esquematicamente na **Figura 43**.

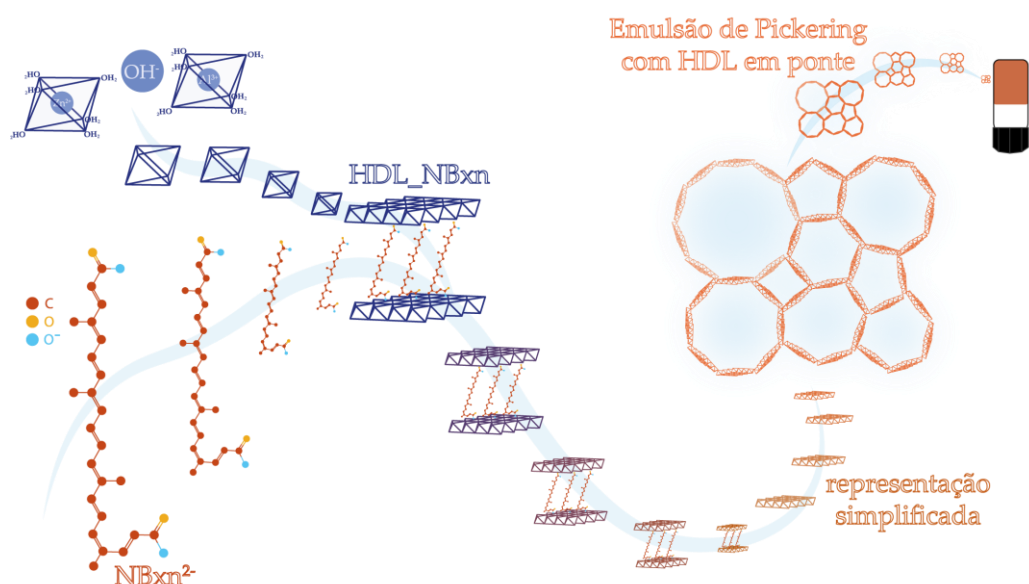


Figura 43 | Representação esquemática da formação do HDL_NBxn e sua utilização como emulsificante de Pickering onde, devido à ação sinérgica entre a matriz de HDL e o ânion orgânico, em conjunto com a ação da partícula como ponte entre duas (ou mais) gotículas de fase dispersa, se sugere que forneça a propriedade gel das emulsões preparadas.

5 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os procedimentos de precipitação com ácido e o de recristalização em acetona foram eficientes em purificar e isolar, na forma sólida, os corantes norbixina e bixina, respectivamente. A técnica de HPLC-PDA mostrou que o principal componente dos sólidos isolados eram as moléculas de corante com o isômero desejado e a caracterização espectroscópica por UV-Vis mostrou bandas características de suas estruturas.

O procedimento de coprecipitação lenta foi eficiente em intercalar ânions norbixinato e bixinato em matriz lamelar de Zn^{2+} e Al^{3+} na proporção 2:1, como demonstrado pela técnica de difratometria de raios X. A técnica de FTIR-ATR mostrou aparecimento de novas bandas, atribuídas a modos de estiramento do grupo carboxilato, sugerindo (como esperado) a intercalação dos corantes na forma aniônica, ao passo que a espectroscopia Raman mostrou que a estrutura de polieno conjugado das moléculas foi mantida após inserção na região interlamelar. Os resultados de análise térmica desses materiais, em comparação com os corantes livres, mostraram aumento da estabilidade frente à decomposição por aumento de temperatura, porém, destaca-se que o corante intercalado não apresenta estabilidade maior que seu sal sódico.

A obtenção de dispersões coloidais de HDL intercalado com íon cloreto ou norbixinato foi possível por meio da síntese por coprecipitação rápida. Para o

5| Conclusões e Perspectivas

material intercalado com Cl⁻, observou-se a possibilidade de controlar o tamanho médio de partícula por meio da variação do tempo de tratamento hidrotérmico. Além disso, verificou-se elevada influência da natureza do íon orgânico na formação e no crescimento das partículas, assim como no ângulo de contato medido. O procedimento pós-síntese utilizando sonicador de ponteira ultrassônico por curto intervalo de tempo foi suficiente para obtenção de partículas em distribuição monomodal em diferentes concentrações.

As dispersões preparadas podem agir como estabilizantes de Pickering para o preparo de emulsões tipo o/w. As emulsões preparadas utilizando ultrasonicação apresentaram maior estabilidade frente às preparadas utilizando dispersor (Turrax®). O aumento da concentração da dispersão implicou maior estabilidade e menor tamanho das gotículas de fase dispersa obtidas, enquanto em concentração constante, o aumento da fase óleo aumentou tal tamanho.

A presença de um ânion orgânico na matriz lamelar influenciou as propriedades das emulsões, onde comportamento gel foi verificado mesmo nas emulsões preparadas em baixa concentração, que sofreu influência tanto dessa concentração quanto da fase óleo, como verificado por medidas reológicas. Para o HDL intercalado com ânion cloreto, o comportamento gel foi obtido apenas em elevada concentração da dispersão do estabilizante (4,00 % (m/m)), enquanto na presença de íon orgânico tal comportamento era observado em concentração menor (0,50 % (m/m)). Em ambos os casos, atribuiu-se tal comportamento à formação de

5| Conclusões e Perspectivas

uma rede tridimensional de gotículas unidas entre si por camadas em comum do estabilizante.

Diante dos resultados, e considerando as propriedades apresentadas pelo íon norbixinato em matriz lamelar, seria interessante, para projetos futuros, verificar a influência da imobilização em interface óleo-água (e na rede tridimensional responsável pela propriedade gel) sobre a atividade antioxidante do material. Além disso, ensaios de liberação do íon tanto no material livre quanto nessa interface seriam interessantes para verificar como cada geometria pode alterar a cinética de liberação do íon.

De forma mais abrangente, e considerando a gama de possibilidades que a composição da matriz do HDL pode atingir, se faz interessante considerar a possibilidade de atribuir funcionalidade à emulsão não só por meio da utilização de um ânion orgânico, mas também via composição lamelar, a depender da desejada aplicação. Para aplicações biológicas por exemplo, considerando o caráter exógeno do alumínio, a utilização de Fe^{3+} como substituinte (parcial ou completo) do Al^{3+} é interessante. Também, o estudo da liberação de espécies modelo solubilizadas na fase óleo, buscando compreender a permeabilidade desses sistemas, seriam interessantes a fim de entender seu funcionamento e objetivando, por exemplo, a liberação de espécies farmacológicas de interesse tópico, considerando a manutenção da propriedade gel e a possível atividade antioxidante do material.

6 | REFERÊNCIAS

AAEN, Ragnhild; BRODIN, Fredrik Wernersson; SIMON, Sébastien; HEGGSET, Ellinor Bævre; SYVERUD, Kristin. Oil-in-water emulsions stabilized by cellulose nanofibrils—The effects of ionic strength and pH. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 1–14, 2019. DOI: 10.3390/nano9020259.

ALEMÁN, J. et al. Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC recommendations 2007). **Pure and Applied Chemistry**, [S. l.], v. 79, n. 10, p. 1801–1829, 2007. DOI: 10.1351/pac200779101801.

ALLADA, Rama Kumar; NAVROTSKY, Alexandra; BERBECO, Hillary Thompson; CASEY, William H. Thermochemistry and aqueous solubilities of hydrotalcite-like solids. **Science**, [S. l.], v. 296, n. 5568, p. 721–723, 2002. DOI: 10.1126/science.1069797.

ALLADA, Rama Kumar; PLESS, Jason D.; NENOFF, Tina M.; NAVROTZKY, Alexandra. Thermochemistry of hydrotalcite-like phases intercalated with CO₃²⁻, NO₃⁻, Cl⁻, I⁻, and ReO₄⁻. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 2455–2459, 2005. DOI: 10.1021/cm047813x.

AULDRIDGE, Michele E.; MCCARTY, Donald R.; KLEE, Harry J. Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. **Current Opinion in Plant Biology**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 315–321, 2006. DOI: 10.1016/j.pbi.2006.03.005.

BERGAYA, F.; THENG, B. K. G.; LAGALY, G. **Handbook of Clay Science**. [s.l.: s.n.]. v. 1 DOI: 10.1016/S1572-4352(05)01039-1. Disponível em: <http://books.google.com/books?id=uVbam9Snw5sC&pgis=1>.

BOCLAIR, Joseph W.; BRATERMAN, Paul S. Layered double hydroxide stability. 1. Relative stabilities of layered double hydroxides and their simple counterparts. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 298–302, 1999. DOI: 10.1021/cm980523u.

BUKHTIYAROVA, M. V. A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry**, [S. l.], v. 269, n. October 2018, p. 494–506, 2019. DOI: 10.1016/j.jssc.2018.10.018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2018.10.018>.

CAI, Xiaolong; LI, Cunjun; TANG, Qi; ZHEN, Bowen; XIE, Xiangli; ZHU, Wenfeng; ZHOU, Chunhui; WANG, Linjiang. Assembling kaolinite nanotube at water/oil interface for enhancing Pickering emulsion stability. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 172, n. January, p. 115–122, 2019. DOI: 10.1016/j.clay.2019.02.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.02.021>.

CALABRESE, Vincenzo; COURTENAY, James C.; EDLER, Karen J.; SCOTT, Janet L. Pickering emulsions stabilized by naturally derived or biodegradable particles. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [S. l.], v. 12, n. Figure 1, p. 83–90, 2018. DOI: 10.1016/j.cogsc.2018.07.002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.002>.

CALOGERO, Giuseppe; BARICHELLO, Jessica; CITRO, Ilaria; MARIANI, Paolo; VESCE, Luigi; BARTOLOTTA, Antonino; DI CARLO, Aldo; DI MARCO, Gaetano. Photoelectrochemical and spectrophotometric studies on dye-sensitized solar cells (DSCs) and stable modules (DSCMs) based on natural apocarotenoids pigments. **Dyes and Pigments**, [S. l.], v. 155, n. December 2017, p. 75–83, 2018. DOI: 10.1016/j.dyepig.2018.03.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.03.021>.

CÁRDENAS-CONEJO, Yair; CARBALLO-UICAB, Víctor; LIEBERMAN, Meric; AGUILAR-ESPINOSA, Margarita; COMAI, Luca; RIVERA-MADRID, Renata. De novo transcriptome sequencing in *Bixa orellana* to identify genes involved in methylerythritol phosphate, carotenoid and bixin biosynthesis. **BMC Genomics**, [S. l.], v. 16, n. 1, 2015. DOI: 10.1186/s12864-015-2065-4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-015-2065-4>.

CAVANI, F.; TRIFIRO, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-type anionic clays: preparation, properties and applications, I I (I99 I) 173-301 Elsevier Science Publishers. **Catalysis Today**, [S. l.], v. 11, p. 173–301, 1991. Disponível em: http://dns2.asia.edu.tw/~ysho/YSHO-English/2000_Engineering/PDF/Cat_Tod11_173.pdf.

CHEVALIER, Yves; BOLZINGER, Marie Alexandrine. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 439, p. 23–34, 2013. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.02.054. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>.

CHISTÉ, Renan Campos; MERCADANTE, Adriana Zerlotti; GOMES, Ana; FERNANDES, Eduarda; LIMA, José Luís Fontes Da Costa; BRAGAGNOLO, Neura. In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 127, n. 2, p. 419–426, 2011. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.139.

CLAYDEN, Jonathan; GREEVES, Nick; WARREN, Stuart. **Organic Chemistry**. 2nd. ed. New York: Oxford University Press Inc., 2012.

6 | Referências

COSTANTINO, Umberto; MARMOTTINI, Fabio; NOCCHETTI, Morena; VIVANI, Riccardo. New Synthetic Routes to Hydrotalcite-Like Compounds – Characterisation and Properties of the Obtained Materials. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 1998, n. 10, p. 1439–1446, 1998. DOI: 10.1002/(SICI)1099-0682(199810)1998:10<1439::AID-EJIC1439>3.0.CO;2-1. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-0682\(199810\)1998:10%3C1439::AID-EJIC1439%3E3.0.CO;2-1](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-0682(199810)1998:10%3C1439::AID-EJIC1439%3E3.0.CO;2-1).

CREPALDI, Eduardo Luis; VALIM, João Barros. Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 300–311, 1998. DOI: 10.1590/S0100-40421998000300011.

CUNHA, Vanessa R. R. et al. Delivery system for mefenamic acid based on the nanocarrier layered double hydroxide: Physicochemical characterization and evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive potential. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 58, p. 629–638, 2016. a. DOI: 10.1016/j.msec.2015.08.037. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.037>.

CUNHA, Vanessa R. R.; FERREIRA, Ana Maria da C.; CONSTANTINO, Vera R. L. Hidróxidos Duplos Lamelares: Nanopartículas Inorgânicas Para Armazenamento e Liberação de Espécies de Interesse Biológico e Terapêutico. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 159–171, 2010.

CUNHA, Vanessa R. R.; PETERSEN, Philippe a D.; GONC, Marcos B.; PETRILLI, Helena M.; TAVIOT-GUEHO, Christine; LEROUX, Fabrice; TEMPERINI, Marcia L. a; CONSTANTINO, Vera R. L.; SP, Paulo. Structural, Spectroscopic (NRM, IR, and Raman), and DFT Investigation of the Self-Assembled Nanostructure of Pravastatin-LDH (Layered Double Hydroxides) Systems. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 24, p. 1415–1425, 2012.

CUNHA, Vanessa Roberta Rodrigues; DE SOUZA, Rodrigo Barbosa; DA FONSECA MARTINS, Ana Maria Cristina Rebello Pinto; KOH, Ivan Hong Jun; CONSTANTINO, Vera Regina Leopoldo. Accessing the biocompatibility of layered double hydroxide by intramuscular implantation: Histological and microcirculation evaluation. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 6, n. July, p. 1–10, 2016. b. DOI: 10.1038/srep30547. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/srep30547>.

DE FOLTER, Julius W. J.; VAN RUIJVEN, Marjolein W. M.; VELIKOV, Krassimir P. Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein. **Soft Matter**, [S. l.], v. 8, n. 25, p. 6807–6815, 2012. DOI: 10.1039/c2sm07417f.

DE OLIVEIRA, Luiz F. C.; DANTAS, Sócrates O.; VELOZO, Eudes S.; SANTOS, Paulo S.; RIBEIRO, Mauro C. C. Resonance Raman investigation and semi-empirical calculation of the natural carotenoid bixin. **Journal of Molecular Structure**, [S. l.], v. 435, n. 2, p. 101–107, 1997. DOI: 10.1016/S0022-2860(97)00173-7.

DE SOUSA FILHO, Paulo C.; SERRA, Osvaldo A. Metodologias de síntese em fase líquida para a obtenção de nanomateriais inorgânicos à base de Terras Raras. **Química Nova**, [S. l.], v. 38, n. 5, p. 679–696, 2015. DOI: 10.5935/0100-4042.20150049.

DEMEL, Jan; HYNEK, Jan; KOVÁŘ, Petr; DAI, Yan; TAVIOT-GUÉHO, Christine; DEMEL, Ondřej; POSPÍŠIL, Miroslav; LANG, Kamil. Insight into the structure of layered zinc hydroxide salts intercalated with dodecyl sulfate anions. **Journal of Physical Chemistry C**, [S. l.], v. 118, n. 46, p. 27131–27141, 2014. DOI: 10.1021/jp508499g.

DUAN, X.; EVANS, David G. **Layered Double Hydroxides**. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. v. 119 DOI: 10.1007/b100426. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/b100426>.

EMBRAPA. **Coleção Plantar: Urucum**. 2ª ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

EULÁLIO, Denise. **Hidróxidos Duplos Lamelares: Estudos da Intercalação e Liberação de N-acetil-L-cisteína**. 2019. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2019.

FIGUEIREDO, Mariana P. et al. Iron-Based Layered Double Hydroxide Implants: Potential Drug Delivery Carriers with Tissue Biointegration Promotion and Blood Microcirculation Preservation. **ACS Omega**, [S. l.], v. 3, n. 12, p. 18263–18274, 2018. DOI: 10.1021/acsomega.8b02532.

FONTINELE, Leonardo Pinheiro; SOUSA, Rayssilane Cardoso De; VIANA, Vicente Galber Freitas; FARIAS, Emanuel Airton de Oliveira Farias; QUEIROZ, Edivaldo Leal; EIRAS, Carla. Norbixin extracted from urucum (*Bixa orellana* L.) for the formation of conductive composites with potential applications in electrochemical sensors. **Surfaces and interfaces**, [S. l.], v. 13, p. 92–100, 2018.

FRELICHOWSKA, Justyna; BOLZINGER, Marie Alexandrine; CHEVALIER, Yves. Effects of solid particle content on properties of o/w Pickering emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 351, n. 2, p. 348–356, 2010. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.08.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2010.08.019>.

FU, Dongwen; DENG, Sumeng; MCCLEMENTS, David Julian; ZHOU, Lei; ZOU, Liqiang; YI, Jiang; LIU, Chengmei; LIU, Wei. Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 89, n. October 2018, p. 80–89, 2019. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.10.032. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>.

GARCIA-GUINEA, J.; CORRECHER, V.; LOZANO-DIZ, E.; BAÑARES, M. A.; LOPEZ-ARCE, P.; GARCÍA, A. M.; MORENO, D. A. Effect of thermal annealing on synthetic sodium oxalate crystals. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, [S. l.], v. 91, n. 2, p. 332–337, 2011. DOI: 10.1016/j.jaap.2011.03.011.

6 | Referências

- GARCIA, Carlos Eduardo Rocha; BOLOGNESI, Vinícius José; DE FÁTIMA GASPARI DIAS, Josiane; MIGUEL, Obdúlio Gomes; COSTA, Camila Klocker. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciencia Rural**, [S. l.], v. 42, n. 8, p. 1510–1517, 2012. DOI: 10.1590/s0103-84782012000800029.
- GIL, Otávio M.; ROCHA, Michele A.; CONSTANTINO, Vera R. L.; KOH, Ivan H. J.; DE FARIA, Dalva L. A. Modified drug release system based on Sulindac and layered double hydroxide: An in vivo Raman investigation. **Vibrational Spectroscopy**, [S. l.], v. 87, p. 60–66, 2016. DOI: 10.1016/j.vibspec.2016.09.010.
- GREENWOOD, R.; KENDALL, K. Selection of Suitable Dispersants for Aqueous Suspensions of Zirconia and Titania Powders using Acoustophoresis. **Journal of the European Ceramic Society**, [S. l.], v. 19, n. 4, p. 479–488, 1999. DOI: 10.1016/s0955-2219(98)00208-8.
- GU, Zi; ZUO, Huali; LI, Li; WU, Aihua; XU, Zhi Ping. Pre-coating layered double hydroxide nanoparticles with albumin to improve colloidal stability and cellular uptake. **Journal of Materials Chemistry B**, [S. l.], v. 3, n. 16, p. 3331–3339, 2015. DOI: 10.1039/c5tb00248f.
- HAN, S. H.; ZHANG, C. G.; HOU, W. G.; SUN, D. J.; WANG, G. T. Study on the preparation and structure of positive sol composed of mixed metal hydroxide. **Colloid and Polymer Science**, [S. l.], v. 274, n. 9, p. 860–865, 1996. DOI: 10.1007/BF00654744.
- HANAOR, Dorian; MICHELAZZI, Marco; LEONELLI, Cristina; SORRELL, Charles C. The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of ZrO₂. **Journal of the European Ceramic Society**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 235–244, 2012. DOI: 10.1016/j.jeurceramsoc.2011.08.015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2011.08.015>.
- HARMAN, Clarissa L. G.; PATEL, Mehzabin A.; GULDIN, Stefan; DAVIES, Gemma Louise. Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 39, p. 173–189, 2019. DOI: 10.1016/j.cocis.2019.01.017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.017>.
- HARRISON, Peter J.; BUGG, Timothy D. H. Enzymology of the carotenoid cleavage dioxygenases: Reaction mechanisms, inhibition and biochemical roles. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 544, p. 105–111, 2014. DOI: 10.1016/j.abb.2013.10.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2013.10.005>.

6 | Referências

- JOY, Mathew; IYENGAR, Srividhya J.; CHAKRABORTY, Jui; GHOSH, Swapankumar. Layered double hydroxide using hydrothermal treatment: morphology evolution, intercalation and release kinetics of diclofenac sodium. **Frontiers of Materials Science**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 395–408, 2017. DOI: 10.1007/s11706-017-0400-1.
- KAGANYUK, M.; MOHRAZ, A. Non-monotonic dependence of Pickering emulsion gel rheology on particle volume fraction. **Soft Matter**, [S. l.], v. 13, n. 13, p. 2513–2522, 2017. DOI: 10.1039/c6sm02858f.
- KANG, E. J.; CAMPBELL, R. E.; BASTIAN, E.; DRAKE, M. A. Invited review: Annatto usage and bleaching in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 93, n. 9, p. 3891–3901, 2010. DOI: 10.3168/jds.2010-3190. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3190>.
- KAPTAY, G. On the equation of the maximum capillary pressure induced by solid particles to stabilize emulsions and foams and on the emulsion stability diagrams. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 282–283, p. 387–401, 2006. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2005.12.021.
- LEE, Matthew N.; CHAN, Hubert K.; MOHRAZ, Ali. Characteristics of pickering emulsion gels formed by droplet bridging. **Langmuir**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 3085–3091, 2012. DOI: 10.1021/la203384f.
- LOBATO, Kleidson Brito de Sousa; PAESE, Karina; FORGEARINI, Joana Casanova; GUTERRES, Silvia Stanisçuaski; JABLONSKI, André; RIOS, Alessandro de Oliveira. Evaluation of stability of bixin in nanocapsules in model systems of photosensitization and heating. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 8–14, 2015. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.09.044.
- LÓRÁND, Tamás; MOLNÁR, Péter; DELI, József; TÓTH, Gyula. FT-IR study of some seco- and apocarotenoids. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, [S. l.], v. 53, n. 1–3, p. 251–258, 2002. DOI: 10.1016/S0165-022X(02)00113-6.
- LOW, Liang Ee; SIVA, Sangeetapriyva P.; HO, Yong Kuen; CHAN, Eng Seng; TEY, Beng Ti. Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 277, p. 102117, 2020. DOI: 10.1016/j.cis.2020.102117. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102117>.
- LYNG, Sabrina Mendes Ortega; PASSOS, Mauricio; FONTANA, José Domingos. Bixin and α -cyclodextrin inclusion complex and stability tests. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 865–872, 2005. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.02.017.

6 | Referências

- MACHADO, João Pedro Elias; DE FREITAS, Rilton Alves; WYPYCH, Fernando. Layered clay minerals, synthetic layered double hydroxides and hydroxide salts applied as pickering emulsifiers. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 169, n. October 2018, p. 10–20, 2019. DOI: 10.1016/j.clay.2018.12.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.12.007>.
- MAGRI, Vagner R.; DUARTE, Alfredo; PEROTTI, Gustavo F.; CONSTANTINO, Vera R. L. Investigation of thermal behavior of layered double hydroxides intercalated with carboxymethylcellulose aiming bio-carbon based nanocomposites. **ChemEngineering**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 1–17, 2019. DOI: 10.3390/chemengineering3020055.
- MAIA, Lenize F.; RIMULO, Isabela M. R.; DE OLIVEIRA, Vanessa E.; ARVELLOS, Júlio A. F.; COSTA, Luiz A. S.; EDWARDS, Howell G. M.; DE OLIVEIRA, Luiz F. C. Understanding Solvent/Bixin Interactions by Raman Spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 1370–1382, 2020. DOI: 10.21577/0103-5053.20200022.
- MISHRA, Geetanjali; DASH, Barsha; PANDEY, Sony. Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 153, n. December 2017, p. 172–186, 2018. DOI: 10.1016/j.clay.2017.12.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.12.021>.
- MIYATA, Shigeo. The Syntheses of Hydrotalcite-Like Compounds and Their Structures and Physico-Chemical Properties - I: The Systems Mg²⁺-Al³⁺-NO₃⁻, Mg²⁺-Al³⁺-Cl⁻, Mg²⁺-Al³⁺-ClO₄⁻, Ni²⁺-Al³⁺-Cl⁻ AND Zn²⁺-Al³⁺-Cl⁻. **Clays and Clay Minerals**, [S. l.], v. 23, p. 369–375, 1975.
- MOHSIN, Sumaiyah Megat Nabil; HUSSEIN, Mohd Zobir; SARIJO, Siti Halimah; FAKURAZI, Sharida; ARULSELVAN, Palanisamy; TAUFIQ-YAP, Yun Hin. Nanolayered composite with enhanced ultraviolet ray absorption properties from simultaneous intercalation of sunscreen molecules. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], v. 13, p. 6359–6374, 2018. DOI: 10.2147/IJN.S171390.
- MONTENEGRO, Mariana A.; RIOS, Alessandro De O.; MERCADANTE, Adriana Z.; NAZARENO, Mónica A.; BORSARELLI, Claudio D. Model Studies on the Photosensitized Isomerization of Bixin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 367–373, 2004. DOI: 10.1021/jf0349026.
- NG'ETICH, Wesley K.; MARTINCIGH, Bice S. A critical review on layered double hydroxides: Their synthesis and application in sunscreen formulations. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 208, n. April, p. 106095, 2021. DOI: 10.1016/j.clay.2021.106095. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2021.106095>.

6 | Referências

- PEROTTI, Gustavo F.; SILVA, Felipe F.; COUTO, Ricardo A. A. De; LIMA, Filipe C. D. A.; PETRILLI, Helena M.; LEROUX, Fabrice; FERREIRA, Ana M. C.; CONSTANTINO, Vera R. L. Intercalation of apocarotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) into Layered Double Hydroxides. **Journal of Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–13, 2020.
- PICKERING, Spencer Umfreville. CXCVI.—Emulsions. **J. Chem. Soc., Trans.**, [S. l.], v. 91, p. 2001–2021, 1907. DOI: 10.1039/CT9079102001. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=CT9079102001>.
- RADDATZ-MOTA, Denise; PÉREZ-FLORES, Laura J.; CARRARI, Fernando; MENDOZA-ESPINOZA, José A.; DE LEÓN-SÁNCHEZ, Fernando Díaz; PINZÓN-LÓPEZ, Luis L.; GODOY-HERNÁNDEZ, Gregorio; RIVERA-CABRERA, Fernando. Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of pigment and vitamin E. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 54, n. 6, p. 1729–1741, 2017. DOI: 10.1007/s13197-017-2579-7.
- RAHMALIA, Winda; FABRE, Jean-François; MOULOUGUI, Zéphirin. Effects of Cyclohexane/Acetone Ratio on Bixin Extraction Yield by Accelerated Solvent Extraction Method. **Procedia Chemistry**, [S. l.], v. 14, p. 455–464, 2015. DOI: 10.1016/j.proche.2015.03.061. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.061>.
- 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**, [S. l.], v. 72, n. 477–486, p. 156–164, 1903. DOI: 10.1098/rspl.1903.0034. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspl.1903.0034>.
- REITH, J. F.; GIELEN, J. W. Properties of Bixin and Norbixin and the Composition of Annatto Extracts. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 861–864, 1971. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1971.tb15545.x.
- RICHHARIYA, Geetam; KUMAR, Anil; TEKASAKUL, Perapong; GUPTA, Bhupendra. Natural dyes for dye sensitized solar cell: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 69, p. 705–718, 2017. DOI: 10.1016/j.rser.2016.11.198. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.198>.
- RIOS, Alessandro De O.; BORSARELLI, Claudio D.; MERCADANTE, Adriana Z. Thermal degradation kinetics of bixin in an aqueous model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 53, n. 6, p. 2307–2311, 2005. DOI: 10.1021/jf0481655.
- RIVERA-MADRID, Renata; AGUILAR-ESPINOSA, Margarita; CÁRDENAS-CONEJO, Yair; GARZA-CALIGARIS, Luz E. Carotenoid derivatives in achiote (*Bixa orellana*) seeds: Synthesis and health promoting properties. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 7, n. September, p. 1–7, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.01406.

6 | Referências

RIVES, Vicente. **Layered Double Hydroxides: Present and Future**. 1. ed. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2001.

ROCHA. **Materiais Híbridos Nanoestruturados à Base de Hidróxidos Duplos Lamelares e o Fármaco Sulindaco**. 2015. USP, [S. l.], 2015.

ROCHA, Michele A.; PETERSEN, Philippe A. D.; TEIXEIRA-NETO, Erico; PETRILLI, Helena M.; LEROUX, Fabrice; TAVIOT-GUEHO, Christine; CONSTANTINO, Vera R. L. Layered double hydroxide and sulindac coiled and scrolled nanoassemblies for storage and drug release. **RSC Advances**, [S. l.], v. 6, n. 20, p. 16419–16436, 2016. DOI: 10.1039/c5ra25814f. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C5RA25814F>.

SAINI, Ramesh Kumar; NILE, Shivraj Hariram; PARK, Se Won. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, [S. l.], v. 76, p. 735–750, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.047. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>.

SANTOS, G. C.; ALMEIDA, M. R.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Effect of bixin on DNA damage and cell death induced by doxorubicin in HL60 cell line. **Human and Experimental Toxicology**, [S. l.], v. 35, n. 12, p. 1319–1327, 2016. DOI: 10.1177/0960327116630352.

SANTOS, Letícia F.; DIAS, Vanessa M.; PILLA, Viviane; ANDRADE, Acácio A.; ALVES, Leandro P.; MUNIN, Egberto; MONTEIRO, Viviane S.; ZILIO, Sérgio C. Spectroscopic and photothermal characterization of annatto: Applications in functional foods. **Dyes and Pigments**, [S. l.], v. 110, p. 72–79, 2014. DOI: 10.1016/j.dyepig.2014.05.018.

SCHOONHEYDT, Robert A.; PINNAVAIA, Tom; LAGALY, Gerhard; GANGAS, Nick. Pillared clays and pillared layered solids (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, [S. l.], v. 71, n. 12, p. 2367–2371, 1999. DOI: 10.1351/pac199971122367.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M.; BARANSKI, R. Potential of NIR-FT-Raman spectroscopy in natural carotenoid analysis. **Biopolymers**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 212–221, 2005. DOI: 10.1002/bip.20215.

SCOTTER, M. The chemistry and analysis of annatto food colouring: A review. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, [S. l.], v. 26, n. 8, p. 1123–1145, 2009. DOI: 10.1080/02652030902942873.

SCOTTER, M. J.; THORPE, S. A.; REYNOLDS, S. L.; WILSON, L. A.; STRUTT, P. R. Characterization of the principal colouring components of annatto using high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. **Food Additives and Contaminants**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 301–315, 1994. DOI: 10.1080/02652039409374229.

6 | Referências

SCOTTER, Michael J. Characterisation of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 177–185, 1995. DOI: 10.1016/0308-8146(95)90785-6.

SCOTTER, Michael J.; WILSON, Lesley A.; APPLETON, Graeme P.; CASTLE, Laurence. Analysis of annatto (*Bixa orellana*) food coloring formulations. 1. Determination of Coloring Components and Colored Thermal Degradation Products by High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 1031–1038, 1998. DOI: 10.1021/jf9901845.

SHAHID-UL-ISLAM; RATHER, Luqman J.; MOHAMMAD, Faqeer. Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications - A review. **Journal of Advanced Research**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 499–514, 2016. DOI: 10.1016/j.jare.2015.11.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2015.11.002>.

SHAHID-UL-ISLAM; RATHER, Luqman Jameel; SHAHID, Mohammad; KHAN, Mohd Ali; MOHAMMAD, Faqeer. Study the effect of ammonia post-treatment on color characteristics of annatto-dyed textile substrate using reflectance spectrophotometry. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 59, p. 337–342, 2014. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.05.041. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.041>.

SILVA, Gerlania S.; SOUZA, A. G.; BOTELHO, J. R.; SILVA, M. C. D.; SILVA, T. M. S. Kinetics study of norbixin's first stage thermal decomposition, using dynamic method. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [S. l.], v. 87, n. 3, p. 871–874, 2007. DOI: 10.1007/s10973-006-8198-6.

SILVA, Marta C. D.; BOTELHO, J. R.; CONCEIÇÃO, Marta M.; LIRA, B. F.; COUTINHO, Monyque A.; DIAS, A. F.; SOUZA, A. G.; FILHO, P. F. A. Thermogravimetric investigations on the thermal degradation of bixin, derived from the seeds of annatto (*bixa orellana* L.). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [S. l.], v. 79, n. 2, p. 277–281, 2005. DOI: 10.1007/s10973-005-0049-3.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7th. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, inc., 2005.

SMITH, James; WALLIN, Harriet. **Annatto Extracts (CTA)**. [s.l: s.n.].

STOLL, Liana; RECH, Rosane; FLÔRES, Simone Hickmann; NACHTIGALL, Sonia Marli Bohrz; DE OLIVEIRA RIOS, Alessandro. Poly(acid lactic) films with carotenoids extracts: Release study and effect on sunflower oil preservation. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 281, n. January, p. 213–221, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.12.100.

6 | Referências

STRINGHETA, Paulo C.; SILVA, Pollyanna I.; COSTA, André G. V. Annatto/Urucum— Bixa orellana. **Exotic Fruits**, [S. l.], p. 23–30, 2018. DOI: 10.1016/b978-0-12-803138-4.00006-x.

SUN, Xiaodi; DEY, Sandwip K. Insights into the synthesis of layered double hydroxide (LDH) nanoparticles: Part 2. Formation mechanisms of LDH. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 458, p. 160–168, 2015. DOI: 10.1016/j.jcis.2015.06.025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2015.06.025>.

SUN, Xiaodi; NEUPERGER, Erica; DEY, Sandwip K. Insights into the synthesis of layered double hydroxide (LDH) nanoparticles: Part 1. Optimization and controlled synthesis of chloride-intercalated LDH. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 459, p. 264–272, 2015. DOI: 10.1016/j.jcis.2015.07.073. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2015.07.073>.

VACCARI, Angelo. Preparation and catalytic properties of cationic and anionic clays. **Catalysis Today**, [S. l.], v. 41, n. 1–3, p. 53–71, 1998. DOI: 10.1016/S0920-5861(98)00038-8.

VAN TAMELEN, Eugene E. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 78, n. 6, p. 1266–1266, 1956. DOI: 10.1021/ja01587a062. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01587a062>.

VICENTE, C. M. S.; ANDRÉ, P. S.; FERREIRA, R. A. S. Simple measurement of surface free energy using a web cam. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, [S. l.], v. 34, n. 3, 2012. DOI: 10.1590/s1806-11172012000300012.

WU, Jie; MA, Guang-Hui. Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference. **Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, [S. l.], v. 12, n. 34, p. 4633–4648, 2016. DOI: 10.1002/sml.201600877.

XIAO, Jie; LI, Chao; HUANG, Qingrong. Kafirin Nanoparticle-Stabilized Pickering Emulsions as Oral Delivery Vehicles: Physicochemical Stability and in Vitro Digestion Profile. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 63, n. 47, p. 10263–10270, 2015. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04385.

XIAO, Jie; LI, Yunqi; HUANG, Qingrong. Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 55, p. 48–60, 2016. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.05.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.010>.

XU, Zhi Ping; STEVENSON, Gregory; LU, Chao Qing; LU, Gao Qing. Dispersion and size control of layered double hydroxide nanoparticles in aqueous solutions. **Journal of Physical Chemistry B**, [S. l.], v. 110, n. 34, p. 16923–16929, 2006. DOI: 10.1021/jp062281o.

6 | Referências

YANG, Fei; LIU, Shangying; XU, Jian; LAN, Qiang; WEI, Fang; SUN, Dejun. Pickering emulsions stabilized solely by layered double hydroxides particles: The effect of salt on emulsion formation and stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 302, n. 1, p. 159–169, 2006. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.06.015.

YANG, Fei; NIU, Quan; LAN, Qiang; SUN, Dejun. Effect of dispersion pH on the formation and stability of Pickering emulsions stabilized by layered double hydroxides particles. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 306, n. 2, p. 285–295, 2007. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.10.062. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002197970600957X>.

YU, Qiangqiang; ZHENG, Yangqing; WANG, Yuanpeng; SHEN, Liang; WANG, Haitao; ZHENG, Yanmei; HE, Ning; LI, Qingbiao. Highly selective adsorption of phosphate by pyromellitic acid intercalated ZnAl-LDHs: Assembling hydrogen bond acceptor sites. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 260, n. 422, p. 809–817, 2015. DOI: 10.1016/j.cej.2014.09.059. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.09.059>.

ZELEŇÁK, V.; VARGOVÁ, Z.; GYÖRYOVÁ, K. Correlation of infrared spectra of zinc(II) carboxylates with their structures. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 66, n. 2, p. 262–272, 2007. DOI: 10.1016/j.saa.2006.02.050.

ZHANG, Jianrui; HWANG, Jongkook; ANTONIETTI, Markus; SCHMIDT, Bernhard V. K. J. Water-in-Water Pickering Emulsion Stabilized by Polydopamine Particles and Cross-Linking. **Biomacromolecules**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 204–211, 2019. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b01301.

ZHANG, Nana; ZHANG, Li; SUN, Dejun. Influence of emulsification process on the properties of pickering emulsions stabilized by layered double hydroxide particles. **Langmuir**, [S. l.], v. 31, n. 16, p. 4619–4626, 2015. DOI: 10.1021/la505003w.

ZHANG, Yue; ZHONG, Qixin. Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 1–9, 2013. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.02.009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.009>.

ZHAO, Meng Qiang; ZHANG, Qiang; HUANG, Jia Qi; WEI, Fei. Hierarchical nanocomposites derived from nanocarbons and layered double hydroxides - Properties, synthesis, and applications. **Advanced Functional Materials**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 675–694, 2012. DOI: 10.1002/adfm.201102222.

ZHAO, Xiaofei; ZHANG, Fazhi; XU, Sailong; EVANS, David G.; DUAN, Xue. From layered double hydroxides to ZnO-based mixed metal oxides by thermal decomposition: Transformation mechanism and UV-blocking properties of the product. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 22, n. 13, p. 3933–3942, 2010. DOI: 10.1021/cm100383d.

6 | Referências

ZHAO, Yun; LI, Feng; ZHANG, Rui; EVANS, David G.; DUAN, Xue. Preparation of layered double-hydroxide nanomaterials with a uniform crystallite size using a new method involving separate nucleation and aging steps. **Chemistry of Materials**, [S. l.], v. 14, n. 10, p. 4286–4291, 2002. DOI: 10.1021/cm020370h.

ANEXO

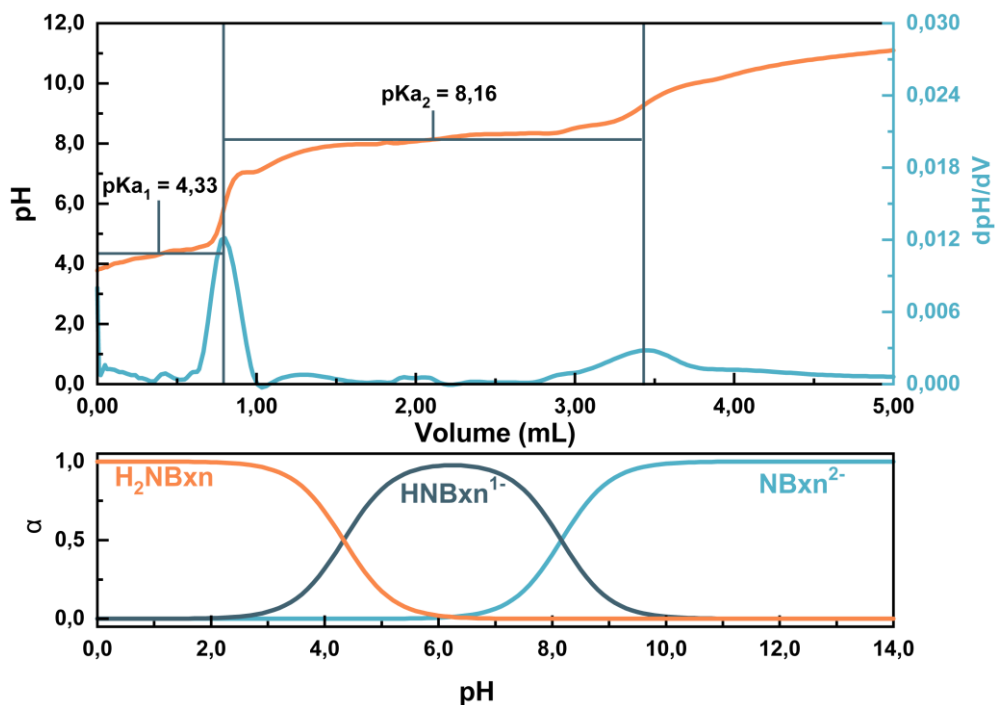


Figura A1 | Curva de titulação potenciométrica, sua primeira derivada e valores de pKa encontrados (superior); concentração relativa (α) das espécies em função do pH (inferior) do corante norbixina (H₂NBxn).

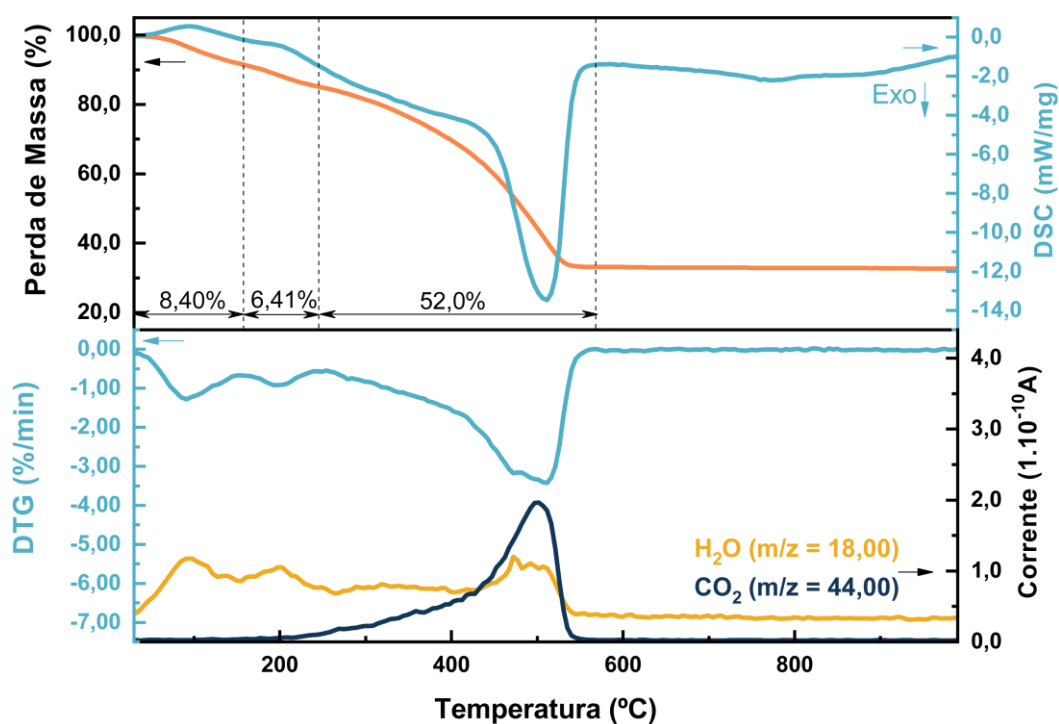


Figura A2 | Curvas TG-DSC (superior) e DTG-MS (inferior) para amostra HDL_NBxn.

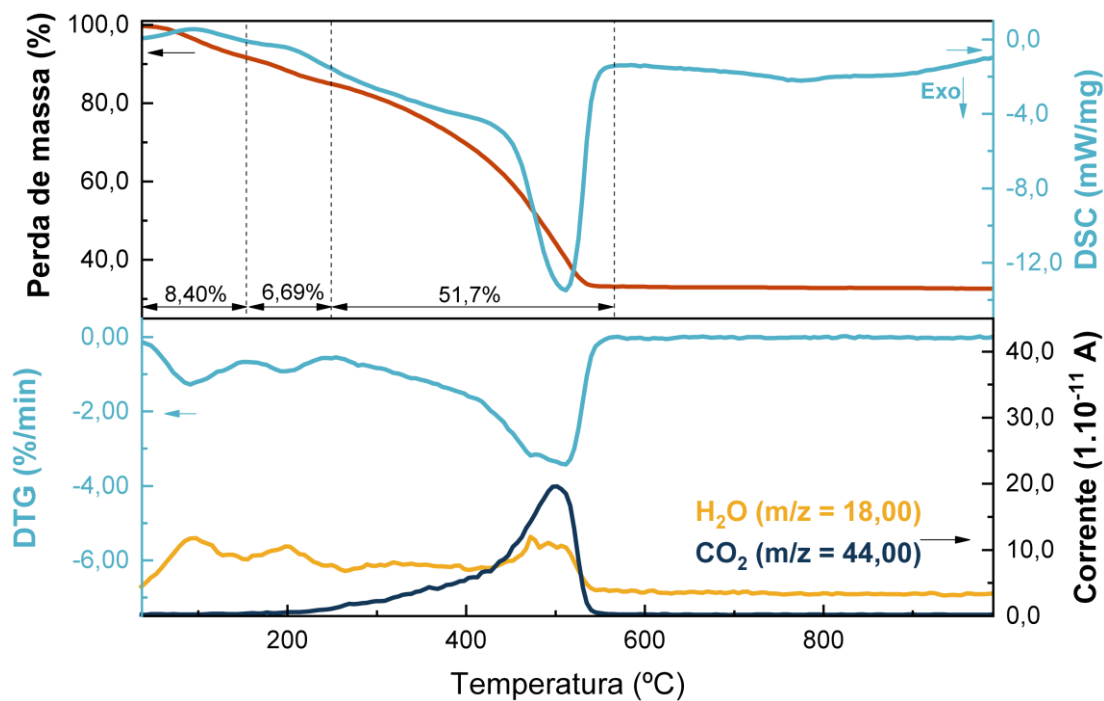
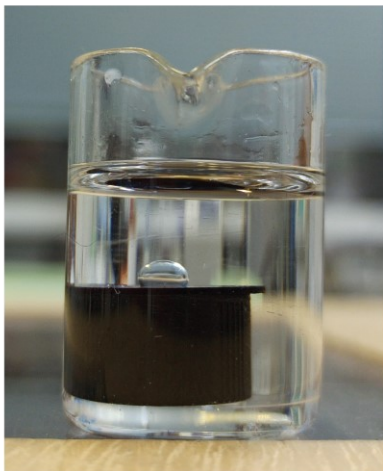


Figura A3| Curvas TG-DSC (superior) e DTG-MS (inferior) para a amostra HDL_Bxn.

A|



B|



C|



Figura A4| Medidas de ângulo de contato entre três fases para os materiais sintetizados. **A.** HDL_flash_Cl; **B.** HDL_flash_NBxn; **C.** Esquema representando como a medida foi realizada; o suporte foi colocado para facilitar a visualização da gotícula de água adicionada.

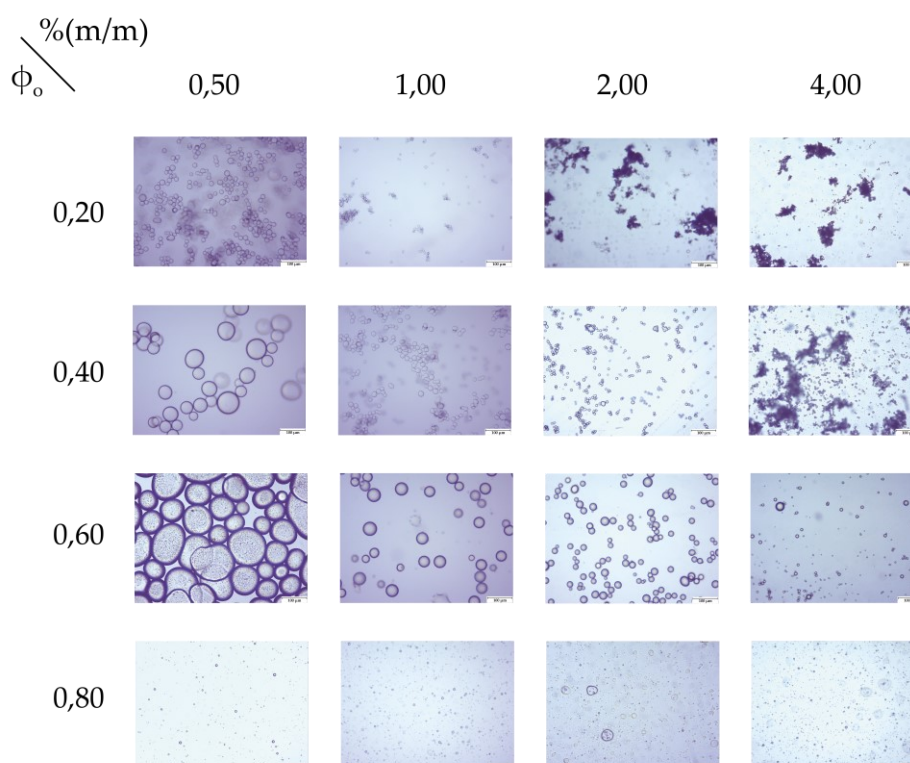


Figura A5 | Imagens de microscopia óptica obtidas para as emulsões de Pickering estabilizadas com HDL_CI em função da concentração (0,50 – 4,00 % (m/m)) e fração óleo (ϕ_o 0,20-0,80, frações pares).

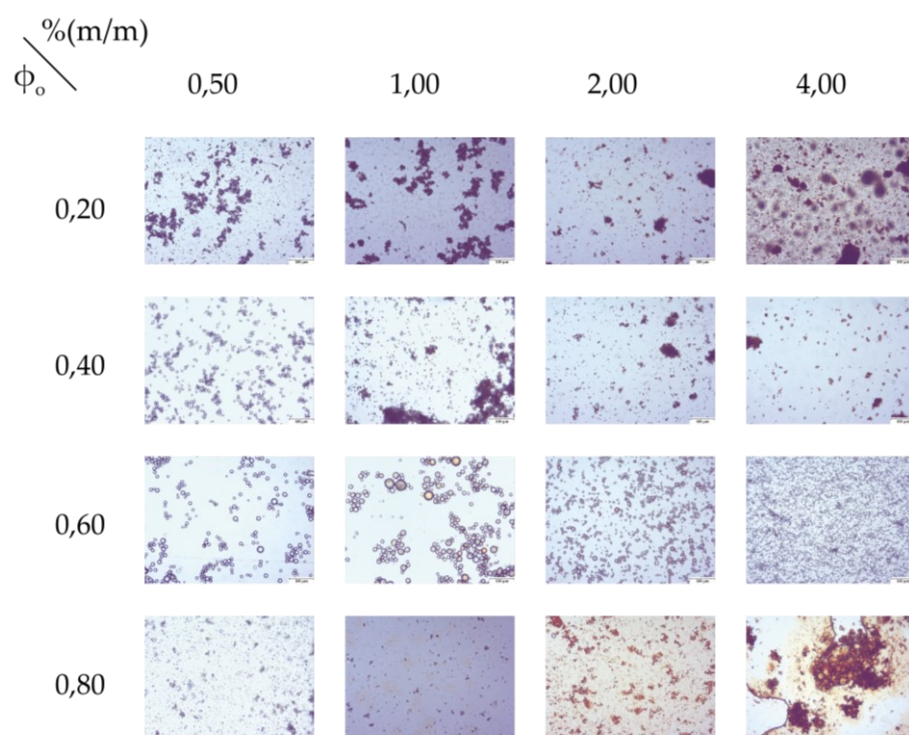


Figura A6 | Imagens de microscopia óptica obtidas para as emulsões de Pickering estabilizadas com HDL_NBxn em função da concentração (0,50 – 4,00 % (m/m)) e fração óleo (ϕ_o 0,20-0,80, frações pares).

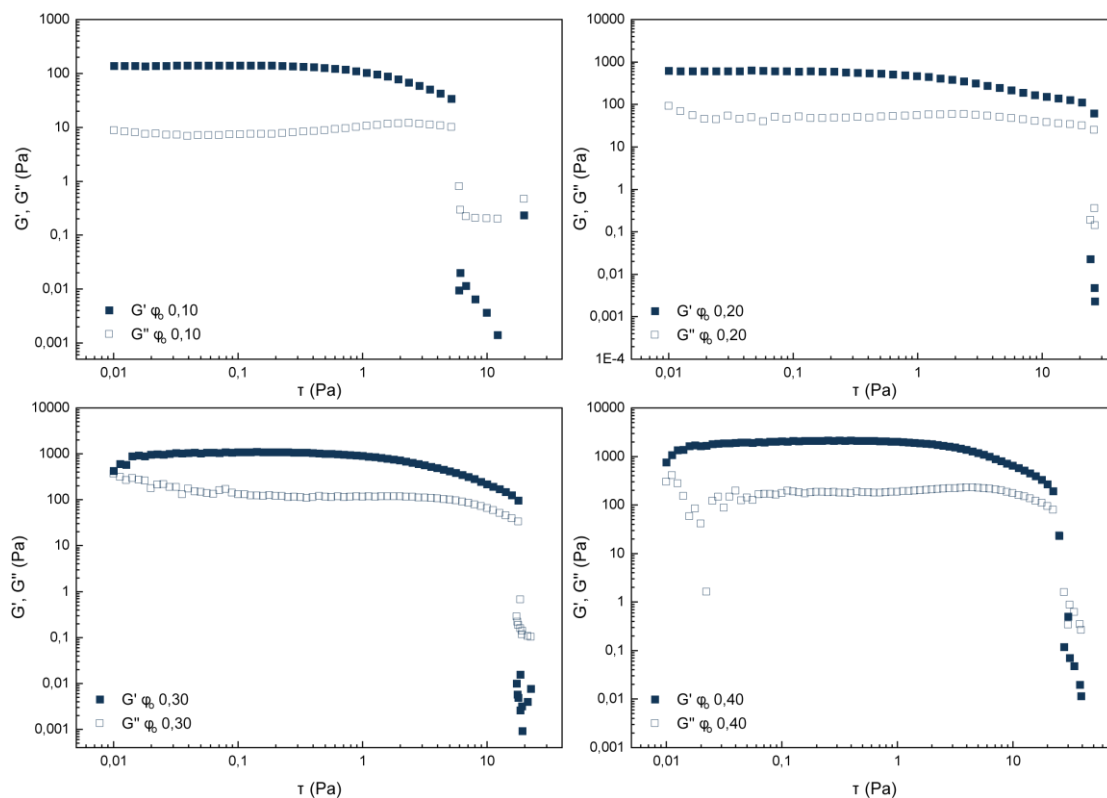


Figura A7 Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude, apresentando módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), das emulsões preparadas com HDL_C1 (4,00 % (m/m)) em frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,40.

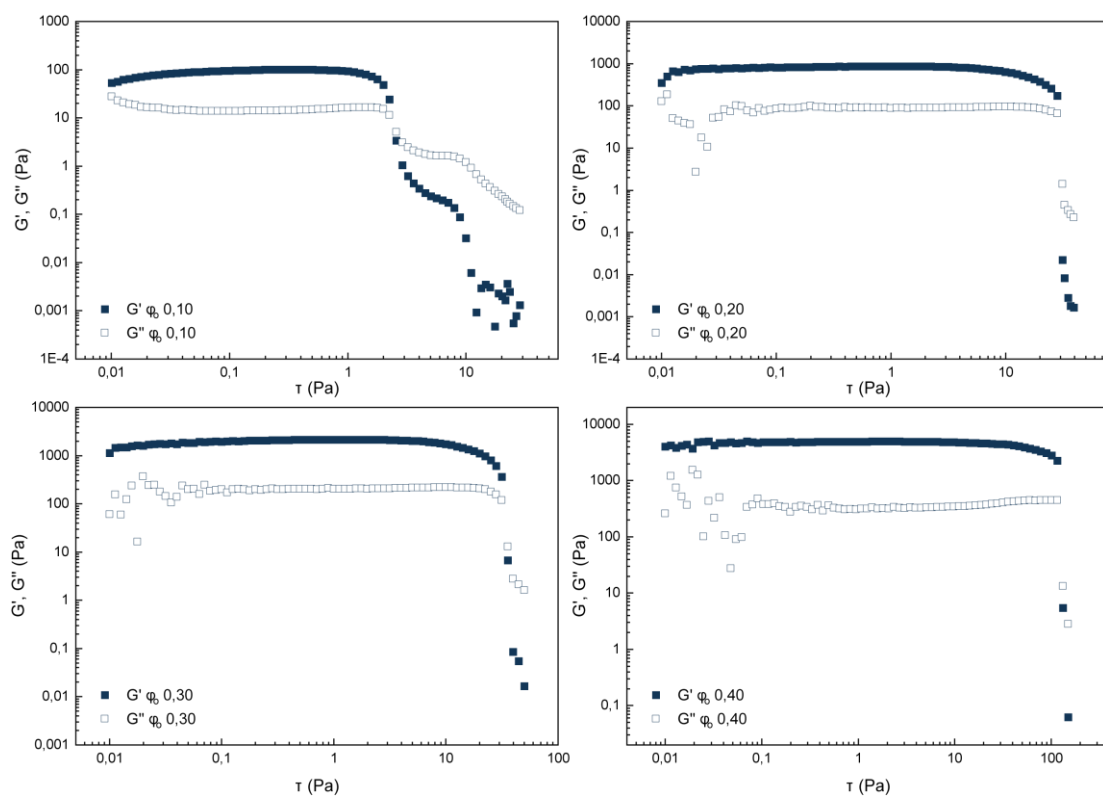


Figura A8 Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude, apresentando módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), das emulsões preparadas com HDL_NBxn (4,00 % (m/m)) em frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,40.

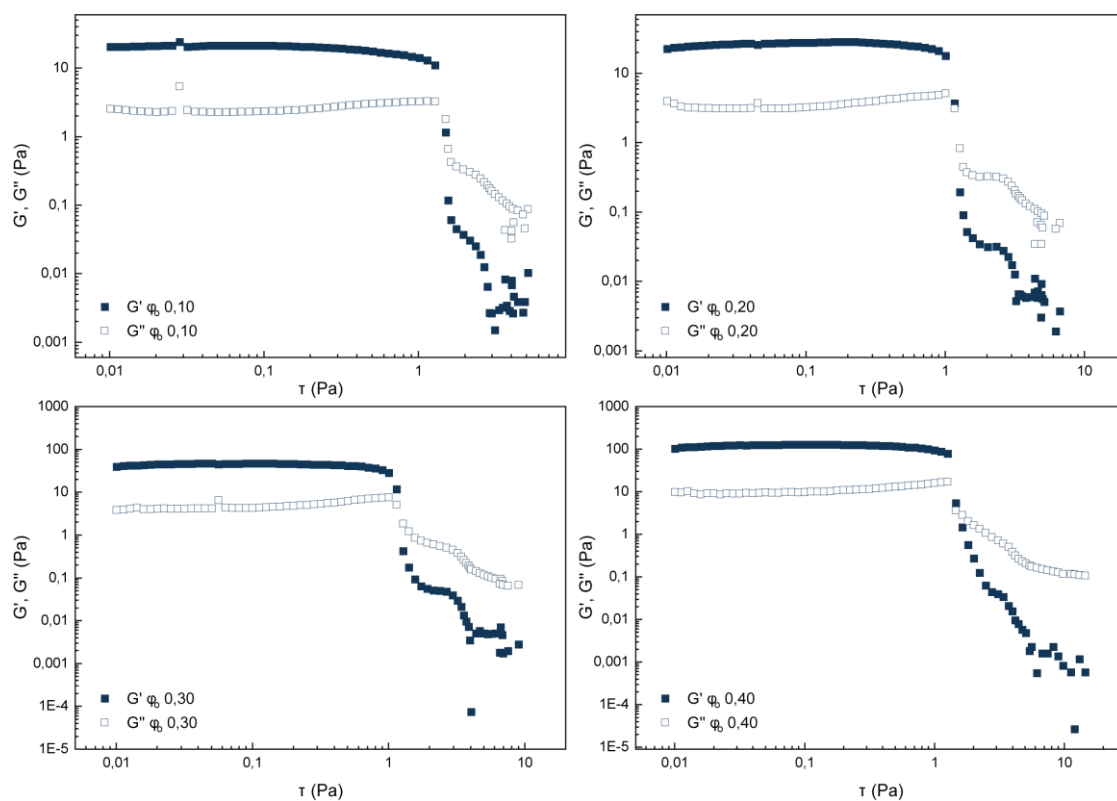


Figura A9 Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude, apresentando módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), das emulsões preparadas com HDL_NBxn (0,50 % (m/m)) em frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,40.

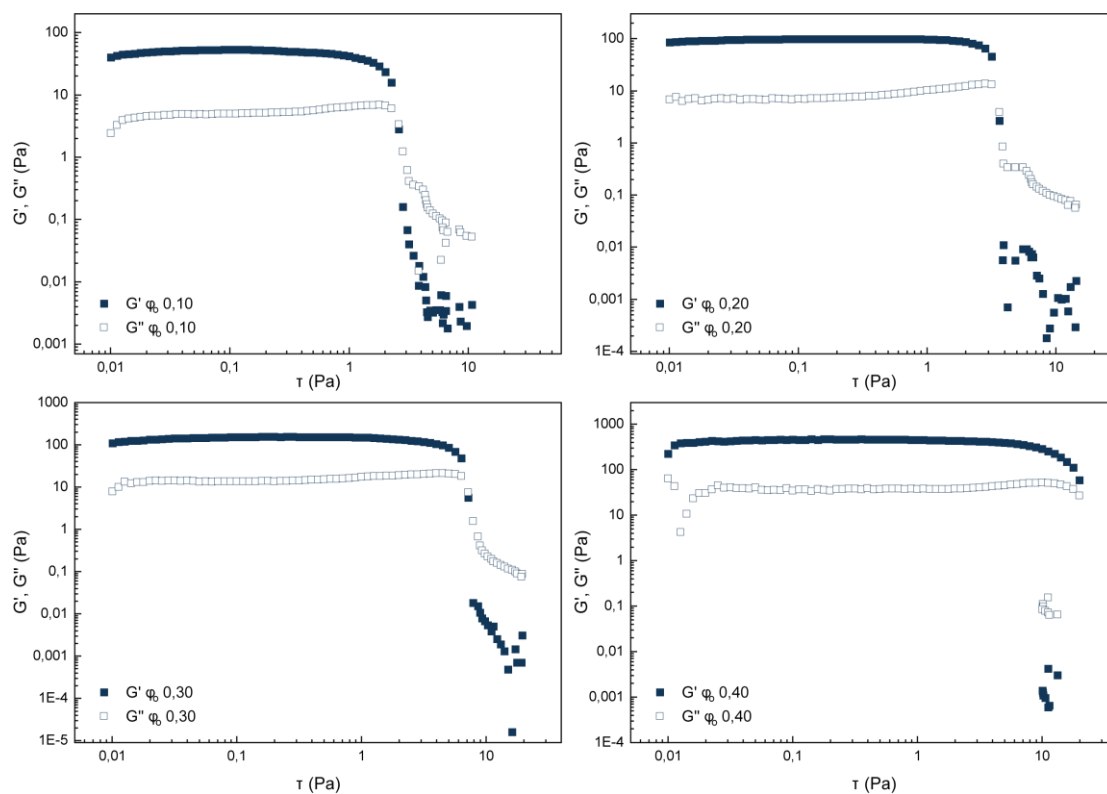


Figura A10 Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude, apresentando módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), das emulsões preparadas com HDL_NBxn (1,00 % (m/m)) em frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,40.

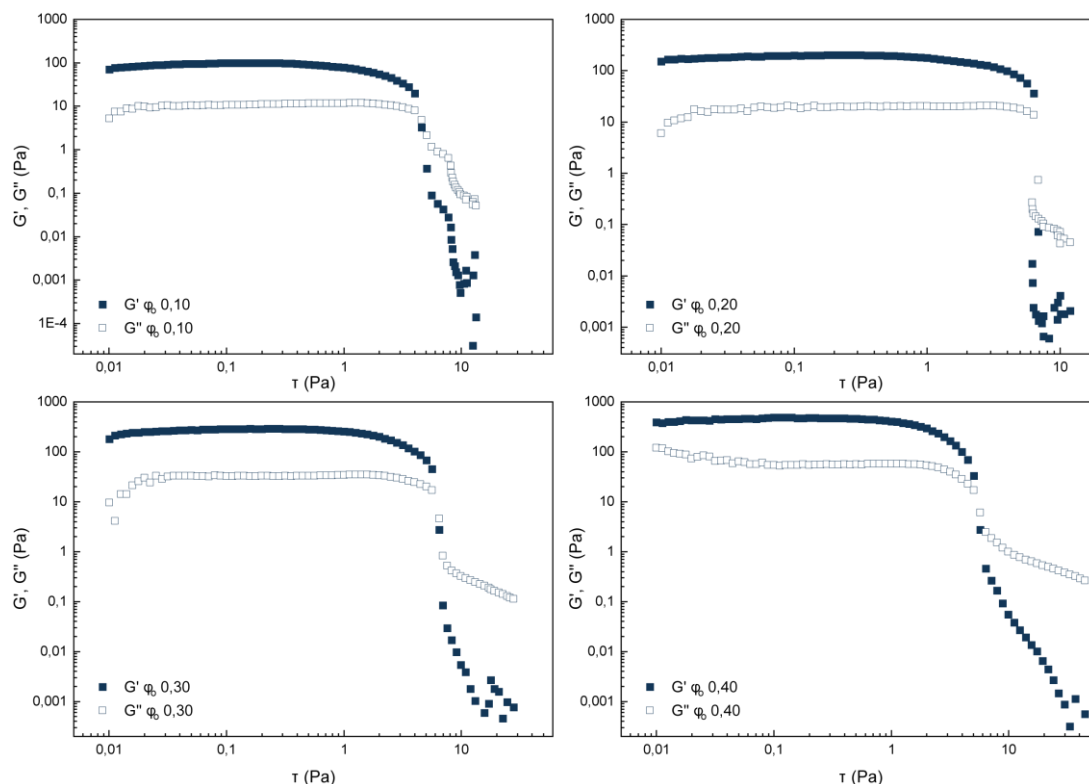


Figura A11 Perfis reológicos obtidos em ensaio oscilatório de amplitude, apresentando módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), das emulsões preparadas com HDL_NBxn (2,00 % (m/m)) em frações óleo (ϕ_o) de 0,10 a 0,40.

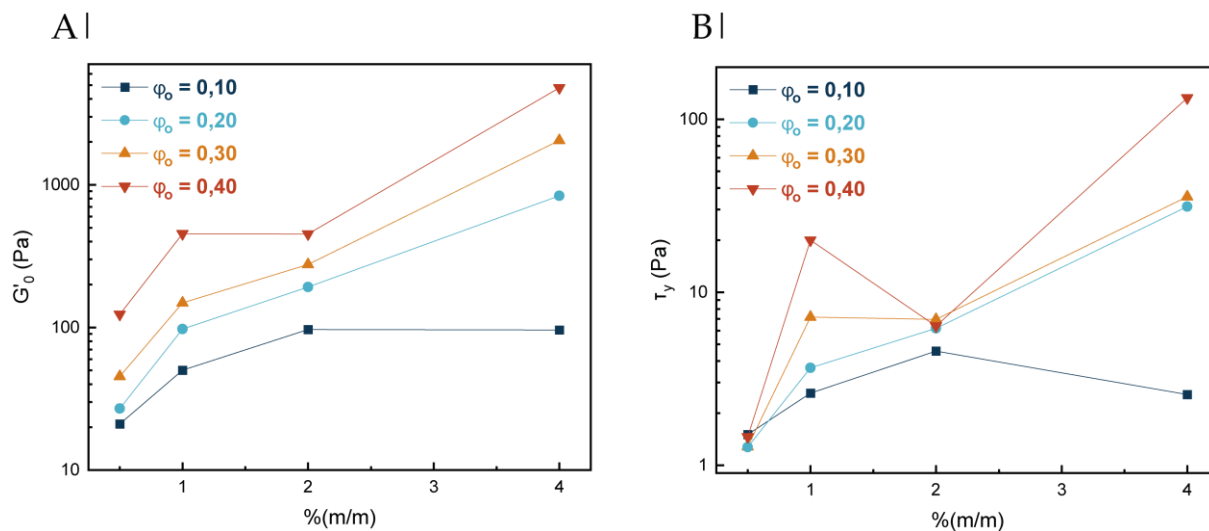


Figura A12 Parâmetros retirados dos perfis reológicos das emulsões preparadas com HDL_NBxn em função da concentração, para as frações óleo 0,10 – 0,40. **A.** G'_0 ; **B.** τ_y .

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Lucas Urbano José.

São Paulo, 20 de janeiro de 1997.

EDUCAÇÃO

Escola Técnica Estadual Getúlio Vargas, São Paulo, 2014. Ensino Médio e Técnico nível Médio em Química

Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2018. Graduação em Química, habilitação em Química Forense.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Introdução ao Software R, online, 2021;

Materiais Lamelares: Estrutura e Propriedades, Manaus, 2020;

Comunicação Escrita e Revisão Gramatical, São Paulo, 2019;

Fundamentos de Espectroscopia Raman e sua aplicação na caracterização de argilominerais, Franca, 2019;

School of Advanced Characterization Techniques, Campinas, 2019;

5ª Escola de Verão em Coloides e Superfícies, São Paulo, 2018.

OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado:

08/2019 – 04/2021 – FAPESP (2019/10002-7)

03/2019 – 07/2019 – CNPq (132769/2019-0)

Monitor PAE:

2020 (Mar. – Jun.) Química Geral e Inorgânica (Curso de graduação em Farmácia e Bioquímica) – Bolsista.

2019 (Mar. – Jun.) Química Inorgânica I: Química dos elementos (Curso de Graduação em Química) – Voluntário.

Iniciação Científica:

2018 (Jul. – Dez.) Laboratório de Físico-Química de coloides e superfícies: síntese e caracterização de hidroxiapatita

2017 (Ago.) – 2018 (Jul.) Laboratório de Físico-Química de coloides e superfícies: monocamadas de Langmuir e estudo da interação de fosfolipídios com íons Sr^{2+}

PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)

2021 Artigo para publicação: em elaboração.

Título (provisório): Pickering Emulsion Gel System Based on Natural Organic Dye-Layered Double Hydroxide Hybrid Colloidal Material

2020 IV Workshop de Química Inorgânica: apresentação online de poster.

Título: Síntese e caracterização de um hidróxido duplo lamelar de Zn^{2+} and Al^{3+} intercalado com o apocarotenoide bixina.

2019 V Reunião Anual de Argilas Aplicadas: apresentação de poster.

Título: Intercalation study of natural apocarotenoid in Zn-Al layered double hydroxide.

2018 6th Meeting on Self Assembly Structures In Solution and at Interfaces: apresentação de poster.

Título: Synthesis and characterization of Langmuir-Blodgett films containing Sr^{2+} .

PRÊMIOS

Prêmio Lavoisier (Conselho Regional de Química IV Região): melhor aluno de química de 2015 a 2018.