UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS (P^2CEM)

TESE DE DOUTORADO

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE COMPÓSITOS A BASE DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR E POLIVINILPIRROLIDONAS PARA CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA

LUANA CALIANDRA FREITAS DE CARVALHO

SÃO CRISTÓVÃO, SE - BRASIL

OUTUBRO DE 2023

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE COMPÓSITOS A BASE DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR E POLIVINILPIRROLIDONAS PARA CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA

LUANA CALIANDRA FREITAS DE CARVALHO

ORIENTADORA: PROFª. DRª. IARA DE FÁTIMA GIMENEZ

SÃO CRISTÓVÃO, SE - BRASIL

OUTUBRO DE 2023

"DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE COMPÓSITOS A BASE DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR E POLIVINILPIRROLIDONAS PARA CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA"

Luana Caliandra Freitas de Carvalho

Tese submetida ao corpo docente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS da Universidade Federal de Sergipe como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

Aprovada por:

Profa. Dra. Iara de Fátima Gimenez

Profa. Dra. Katlin Ivon Barrios Eguiluz

Profa. Dra. Alessandra Almeida Castro Pagani

Prof. Dr. Luís Eduardo Almeida

Prof. Dr. Nivan Bezerra da Costa Junior

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL.

Outubro//2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Carvalho, Luana Caliandra Freitas de

C331i Desenvolvimento e aplicação de compósitos a base de hidróxido duplo lamelar e polivinilpirrolidonas para clarificação de cerveja / Luana Caliandra Freitas de Carvalho ; orientadora Iara de Fátima Gimenez. - São Cristóvão, 2023.
100 f.: il.

Tese (doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Sergipe, 2023.

Dedico a todas as pessoas que me apoiaram e contribuíram para a realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e sustentação, não somente nesta etapa, mas em todos os momentos. Por me conceder mais uma benção, que é a realização deste trabalho.

Agradeço especialmente ao meu esposo, Maycon por me apoiar incondicionalmente durante toda a minha jornada de pesquisa e escrita desta tese. Seu apoio, incentivos e orientações, sempre presentes, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço também por todos os dias de dedicação para me ajudar a organizar os dados e as ideias, e por todos os dias em que me deu suporte para que eu pudesse me concentrar na conclusão deste trabalho. Sem o seu amor, apoio e dedicação, esta tese não seria possível.

À minha família; minha mãe, meu pai e meus irmãos pelo apoio, carinho, paciência e incentivo durante este percurso.

Especialmente à minha orientadora Professora Iara, meus sinceros agradecimentos pela orientação, incentivo, paciência e bons conselhos essenciais para meu amadurecimento, tanto intelectual como pessoal.

Agradeço também pela oportunidade de participar do grupo de pesquisa QUIBIOM.

Aos colegas do QUIBIOM pela ajuda, conversas e momentos de descontração.

Aos demais familiares e amigos, que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos professores do P^2CEM pelos conhecimentos compartilhados.

A Professora DSc. Roberta Menezes Santos pelos treinamentos, auxílio e apoio.

Aos laboratórios de Técnicas de Raios X, ao Laboratório de Microscopia Eletrônica, ao Complexo Laboratorial – Galpão, ao Centro Multiusuário de Nanotecnologia da UFS (CMNano), ao Laboratório de Corrosão e Nanotecnologia (LCNT/NUPEG), ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM I e CLQM II), muito obrigada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia dos Materiais do P^2CEM/UFS pela oportunidade.

A CAPES pela bolsa concedida.

Muito Obrigada!

Resumo da Tese apresentada ao P²CEM/UFS como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais (D.Sc.)

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE COMPÓSITOS A BASE DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR E POLIVINILPIRROLIDONAS PARA CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA

Luana Caliandra Freitas de Carvalho

OUTUBRO/2023

Orientadora: Profª. Drª. Iara de Fátima Gimenez

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

RESUMO

Nesta contribuição, os objetivos incluíram desenvolver, avaliar, caracterizar e otimizar um clarificante para ser aplicado a cerveja artesanal. Assim, foram desenvolvidos compósitos de hidróxido duplo lamelar (HDL) com polivinilpirrolidonas (PVP360 e PVPP) para avaliação do desempenho como clarificante de cerveja artesanal. Para determinar a composição entre os materiais utilizados para preparação dos compósitos, foi elaborado um planejamento estatístico DCCR visando à aplicação desses compósitos como clarificantes de cerveja artesanal. Os modelos propostos pelo planejamento estatístico mostraram efeito significativo para o PVPP, porém em relação ao HDL e PVP360 houve a necessidade de fazer reajustes nas concentrações, elaborando-se uma nova matriz de planejamento experimental. Por último, o novo planejamento foi aplicado à cerveja e foram coletadas as melhores respostas do processo de clarificação. O ensaio 14 foi o compósito que obteve melhor resposta ao processo de clarificação mostrando a eficiência do método. Os resultados sugerem que pode ser construído uma nova otimização e assim, os compósitos desenvolvidos serão potenciais candidatos para serem aplicados como clarificantes industriais.

Palavras-chaves: Povidonas, Hidrotalcitas, Turbidez e Bebidas

Abstract of Thesis presented to P2CEM/UFS as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Materials Science and Engineering (D.Sc.)

DESIGN AND APPLICATION OF COMPOSITES BASED ON LAYERED DOUBLE HYDROXIDE AND POLYVINYLPYRROLIDONES IN BEER CLARIFICATION

Luana Caliandra Freitas de Carvalho

OUTUBRO/2023

Advisor: Profª. Dra. Iara de Fátima Gimenez

Postgraduate Program in Materials Science and Engineering

ABSTRACT

In this contribution, the objectives included developing, evaluating, characterizing and optimizing a clarifier to be applied to craft beer. Thus, lamellar double hydroxide (HDL) composites with polyvinylpyrrolidones (PVP360 and PVPP) were developed to evaluate their performance as craft beer clarifiers. To determine the composition between the materials used to prepare the composites, a DCCR statistical plan was developed aiming at the application of these composites as craft beer clarifiers. The models proposed by statistical planning showed a significant effect for PVPP, however in relation to HDL and PVP360 there was a need to make readjustments in concentrations, creating a new experimental planning matrix. Finally, the new planning was applied to the beer and the best responses from the clarification process were collected. Test 14 was the composite that obtained the best response to the clarification process, showing the efficiency of the method. The results suggest that a new optimization can be constructed and thus, the developed composites will be potential candidates to be applied as industrial clarifiers.

Keywords: Povidones, Hydrotalcites, Turbidity and Beverages

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 4

2.1. OBJETIVO GERAL 4

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 4

3. REVISÃO DA LITERATURA 5

3.1. ARGILAS E ARGILOMINERAIS CATIÔNICOS E ANIÔNICOS 5

3.2. COMPÓSITOS CONVENCIONAIS E NANOCOMPÓSITOS 7

3.3. HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES 11

3.3.1. Estrutura Cristalina da Hidrotalcita 13

3.3.2. Variabilidade de composições de Hidróxidos Duplos Lamelares 14

3.4. POLIVINILPIRROLIDONA 15

3.5. POLIVINILPOLIPIRROLIDONA 16

3.6. CERVEJAS 17

3.6.1. Cerveja industrial e artesanal: Principais Diferenças 19

3.6.2. Parâmetros qualitativos da cerveja que exercem influência na clarificação 21

3.7. TURBIDEZ 22

3.8. AGENTES CLARIFICANTES 22

4. MATERIAL E MÉTODOS 24

4.1. MATERIAIS 24

4.2. PRIMEIRA ETAPA: AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA METODOLOGIA DE HOMOGENEIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS 25

4.3. SEGUNDA ETAPA: ELABORAÇÃO DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E APLICAÇÃO DOS COMPÓSITOS A CERVEJA ARTESANAL 26

4.4. APLICAÇÃO DO COMPÓSITO NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL 28

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA 29
4.6. MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS 30
4.6.1. Difratomeria de Raios X (DRX) 30
4.6.2. Análise Termogravimétrica (ATG) 31
4.6.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 33
5.1. ESTUDO PRÉVIO DAS CONDIÇÕES DE PREPARAÇÃO DOS COMPÓSITOS 33
5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS APLICADOS A CERVEJA 38
5.2.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 39
5.2.2. Análise Termogravimétrica (TG) 42
5.2.3. Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 45
5.3. APLICAÇÃO DOS COMPÓSITOS PARA CLARIFICAÇÃO DA CERVEJA 50
5.3.1. Primeira fase 50
5.3.2. Segunda fase 55
5.4. VALIDAÇÃO 61
5.5. CARACTERIZAÇÃO DOS ENSAIOS OTIMIZADOS APLICADOS A CERVEJA 61
6. CONCLUSÃO 62
7. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS 63
8. APÊNDICE 64
8.1. APÊNDICE I: 64
8.2. APÊNDICE II 65
8.3. APÊNDICE III 66
8.4. APÊNDICE IV 67
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Representação esquemática das estratégias gerais de preparação de nanocompósitos: A) Mistura de componentes pré-formados; B) crescimento *in situ* de nanopartículas e C) polimerização *in situ* dos monômeros na presença dos nanomateriais.....8

FIGURA 2. Imagem de MET típica de (a) argila original; (b) argila intercalada; (c) lamelas esfoliadas, extraída do artigo de acesso aberto (DALIA et al., 2021).....11

FIGURA 3. Representação esquemática da estrutura dos HDLs.....13

FIGURA 4: Estrutura química do polímero polivinilpirrolidona.....16

FIGURA 5. Estrutura química da PVPP.....17

FIGURA 6. Composição química da cerveja.....18

FIGURA 7. (A) Estruturas genéricas de aminoácidos; (B) Estruturas genéricas de um dipeptídeo, formado pela ligação peptídica unindo dois aminoácidos; (C) estrutura do ácido elágico, como exemplo de polifenol.....20

FIGURA 8. Tipos de métodos de homogeneização para formação de compósitos.....21

FIGURA 9. Fluxograma de produção de cerveja em escala laboratorial para avaliação da clarificação.....26

FIGURA 10. Difratogramas de raios-x das amostras preparadas com método de homogeneização HDL + H_2O: agitação mecânica (A), agitação magnética (B) e ultrassom (C).....29

FIGURA 11 Difração de raios-x das amostras preparadas com método de homogeneização HDL + H_2O: agitação mecânica (A), agitação magnética (B) e ultrassom (C)..... 34

FIGURA 12.1. Difração de raios-x dos compósitos preparados com método de homogeneização: ultrassom (A), agitação magnética (B) e agitação mecânica (C).....35

FIGURA 12.2. Ampliações do pico basal dos Difração de raios-x dos compósitos preparados com método de homogeneização: ultrassom (A), agitação magnética (B) e agitação mecânica (C).....36

FIGURA 13. Difração de raios X dos compósitos.....39

FIGURA 14. Espectros do HDL, PVPP e do compósitos 9 C1 na região do infravermelho.....40

FIGURA 15. Espectros na região do infravermelho.....42

FIGURA 16. Curvas TG (A) e DTG (B) dos compósitos.....44

FIGURA 17. Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o HDL; PVP360; PVPP e Ensaio 14.....46

FIGURA 18. Mapeamento de elementos por EDS dos compósitos.....48

FIGURA 19. Micrografia de MEV experimento I.....49

FIGURA 20. Diagramas de Pareto das magnitudes dos efeitos das variáveis concentração de a) HDL/PVP360, b) HDL/PVPP e c) PVP360/PVPP sobre turbidez de cerveja artesanal.....51

FIGURA 21. Superfície de Resposta para a Turbidez em função das variáveis PVP360 e HDL (a), PVPP e HDL (b) e PVPP e PVP360 (c).....54

FIGURA 22. Diagramas de Pareto das magnitudes dos efeitos das variáveis concentração de a) HDL/PVP360, b) HDL/PVPP e c) PVP360/PVPP sobre turbidez de cerveja artesanal após otimização.....57

FIGURA 23. Superfície de Resposta para a Turbidez em função das variáveis PVP360 e HDL (a), PVPP e HDL (b) e PVPP e PVP360 (c) após otimização.....60

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Tipos e estruturas de diferentes nanocompósitos argila-polímero.....09

TABELA 2. Combinação de cátions divalentes com trivalentes que produzem HDL.....14

TABELA 3. Materiais utilizados para produção dos compósitos.....25

TABELA 4 Proporções utilizadas para a formação dos nanocompósitos.....25

TABELA 5. Fatores e níveis experimentais utilizados para avaliar o processo de clarificação de cerveja artesanal.....27

TABELA 6. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal.....27

TABELA 7. Matriz da segunda série de planejamento experimental DCCR 2^3 para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal após otimização.....28

TABELA 8. Concentrações dos compósitos com menores valores de turbidez.....38

TABELA 9. Números de onda (cm-1) e atribuições das bandas observadas nos espectros infravermelhos dos materiais de partida HDL e polímeros.....41

TABELA 10. % de massa presentes nas curvas em intervalos de temperatura entre eventos de decomposição, bem como diferenças entre tais porcentagens.....45

TABELA 11. Matriz do planejamento experimental DCCR 23 e resposta (Turbidez) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal.....50

TABELA 12. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis PVP360 e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal.....52

TABELA 13. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVP360 sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal.....52

TABELA 14. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja

artesanal.....53

TABELA 15. Fatores e níveis experimentais otimizados para avaliar o processo de clarificação da cerveja artesanal.....55

TABELA 16. Matriz do planejamento experimental DCCR 2^3 e resposta (Turbidez) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal após otimização.....56

TABELA 17.1. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis PVP360 e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após otimização.....57

TABELA 17.2. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após a otimização.....58

TABELA 17.3. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PV360 sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após otimização.....58

TABELA 18. Validação do melhor resultado encontrado pela aplicação do clarificante composto por HLD, PVP360 e PVPP.....61

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da cerveja é um fator de extrema relevância durante a comercialização e pode ser prejudicada por diversos fatores incluindo a formação de névoas, que geram turbidez, afetam o sabor e reduzem o tempo de prateleira. Durante o processo de fabricação, diversas variáveis afetam a turbidez do produto final. Dentre elas, pode-se destacar a natureza das matérias primas, a possibilidade de proteínas coagularem na etapa de fervura do mosto, a duração da etapa de fermentação em tanques, tempo e temperatura empregados na maturação e na filtração, dentre outras.(WANNENMACHER et al., 2018) Além desses fatores, destacam-se três parâmetros de estabilidade, frente à proliferação microbiológica, aos componentes coloidais que devem permanecer estáveis e, por fim, à manutenção do aroma, que são fundamentais e contribuem para a qualidade do produto final.(MASTANJEVI´C et al., 2018).

O processo mais deletério para estabilidade coloidal decorre de interações entre proteínas presentes e compostos polifenólicos, que levam à formação de espécies insolúveis e de elevado peso molecular, que geram turbidez, podendo comprometer a aceitação do produto.(DEVOLLI et al., 2018) Vale destacar que essa presença de turbidez pode inclusive se agravar durante a estocagem, diminuindo o tempo de prateleira do produto. Para remover os polifenóis e outras substâncias que levam à turbidez, várias técnicas como adsorção, filtração, centrifugação e soluções clarificadoras têm sido amplamente empregadas. De modo geral, os agentes clarificantes mais empregados baseiam-se na capacidade de se associar às proteínas –como é o caso de agentes ricos em colágeno ou sílica gel– ou aos polifenóis –como é o caso de polímeros como polivinilpolipirrolidona (PVPP) e polivinilpirrolidona (PVP). Outros agentes, como a bentonita, são considerados pouco seletivos, motivando pesquisas no intuito de se obter agentes com maior seletividade.

Neste contexto, a indústria de produção de cerveja não apresenta um nível significativo em termos de desenvolvimento de novas tecnologias, quase sempre se restringindo às novas formas de controle do processo produtivo. Esse nível modesto de inovação se estende também a alternativas para clarificação da bebida. Dentre as características que conferem maiores eficiências para os agentes clarificantes empregados atualmente, estão: i) a presença de cargas positivas, como é o caso do colágeno de peixe, a fim possibilitar interações com fragmentos de paredes celulares de leveduras, que são carregados negativamente; ii) a possibilidade de interagir com polifenóis, que é

contemplada pelos polímeros PVP e PVPP. (DURÁN-LARA et al., 2015) Tomando como base as características favoráveis ao desempenho de agentes clarificantes, buscou-se neste trabalho obter um material que contemplasse ambas características, ou seja, a presença tanto de componentes contendo sítios com cargas positivas quanto dos polímeros PVP e/ou PVPP.

Deste modo, propôs-se neste trabalho estudar a formação de compósitos do tipo polímero-argila baseados em hidróxidos duplos lamelares (HDLs) e os polímeros PVPP e PVP, bem como avaliação frente a clarificação de cervejas artesanais. Os HDLs foram selecionados em virtude da não-toxicidade, da presença de uma estrutura cristalina baseada no empilhamento de lamelas com cargas positivas, bem como a capacidade de formação de compósitos poliméricos. Por sua vez, os polímeros selecionados já são amplamente empregados como clarificantes em virtude da afinidade por compostos fenólicos e polifenólicos. Particularmente, o PVPP foi escolhido pelo uso já bem estabelecido como clarificante insolúvel de cervejas, enquanto que o PVP foi selecionado tanto pela similaridade estrutural com o PVPP, quanto por ser solúvel em água. Este último fator foi crucial para a escolha, buscando um efeito como auxiliar de dispersão do HDL em água, dada a necessidade de contornar a elevada tendência do HDL a agregação em suspensão aquosa.

Os HDLs, pertencentes à classe das argilas aniônicas, são sólidos inorgânicos lamelares cujo principal representante encontrado na natureza é a hidrotalcita $Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3.4H_2O$ (LINS et al., 2020). A base da estrutura do mineral hidrotalcita são camadas formadas por unidades octaédricas $[M(OH)_6]^{4-}$ que compartilham arestas semelhantes às encontradas no mineral brucita $Mg(OH)_2$. Nos HDLs, a estrutura pode ser descrita como resultante da substituição de parte dos cátions bivalentes por cátions trivalentes, resultando em cargas positivas em excesso nas lamelas. Tais cargas são compensadas pela presença de ânions na região interlamelar. Analogamente ao que ocorre com as argilas catiônicas, das quais os filossilicatos são os representantes mais importantes, tanto a possibilidade de troca dos íons compensadores de carga quanto propriedades importantes de intercalação fazem com que os HDLs sejam materiais promissores para um grande número de aplicações práticas, incluindo adsorção, catálise, formação de compósitos e nanocompósitos, entre outras (CHOY et al., 2007; ZHANG et al., 2014; CALABRESE et al., 2016; CALABRESE et al., 2017; BINI e MONTEFORTE, 2018; SCIASCIA et al., 2019).

Neste contexto, os compósitos são os materiais a serem abordados no presente trabalho e podem ser classificados em três grupos: i) aqueles tratados como convencionais, em que as lamelas do argilomineral desempenham um papel de carga de reforço para aplicações como material estrutural ou tirando partido das propriedades individuais e/ou sinérgicas para materiais funcionais; ii) os nanocompósitos do tipo intercalado, nos quais ocorre a introdução de cadeias poliméricas no espaço entre as lamelas do mineral, permanecendo tais estruturas intercaladas dispersas ao longo da matriz polimérica; iii) os nanocompósitos esfoliados, nos quais pode-se encontrar lamelas esfoliadas do argilomineral são esfoliadas dispersas ao longo da matriz polimérica (CHEN et al., 2015). Os nanocompósitos formam grande família de nanomateriais, na qual se destacam aqueles preparados a partir de interações entre argilominerais e biopolímeros, que dão origem aos chamados nanocompósitos naturais de argila-polímero (BERGAYA e LAGALY, 2013) ou os chamados materiais bionanocompósitos (CAVALLARO et al., 2018; BERTOLINO et al., 2018; ALCÂNTARA e DARDER, 2018; CHOI et al., 2018, RUIZ-HITZKY, 2003; DARDER et al., 2007; CAVALLARO et al., 2014; BERTOLINO et al., 2016; ALLOU et al., 2017;).

A depender do contexto, os nanocompósitos poderão ser vantajosos em comparação com os compósitos convencionais e vice-versa. Neste contexto, os nanocompósitos apresentam maiores vantagens relativas a melhorias de propriedades mecânicas e térmicas. No entanto, modificações químicas da argila e a preparação *in situ* do polímero podem ser necessárias. Por outro lado, o uso dos componentes pré-formados evita a realização de procedimentos envolvendo adição de reagentes e solventes, bem como a possibilidade de geração de subprodutos tóxicos. No presente caso, por se tratar de uma aplicação na indústria de alimentos e bebidas, isso contribui para o controle de segurança do material frente a aplicação. Em suma, para aplicações não relativas a materiais estruturais, os compósitos tradicionais podem ser uma escolha apropriada, devendo ser avaliada caso a caso.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Objetiva-se com o presente trabalho desenvolver, avaliar, otimizar e aplicar compósitos a partir da síntese de materiais utilizando os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) a base de magnésio e alumínio, como componente inorgânico contendo lamelas com carga residual positiva, além de polímeros como Polivinilpirrolidona (PVP360) e Polivinilpolipirrolidona (PVPP) no processo de clarificação de cervejas artesanais.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar os compósitos contendo HDL/PVP360/PVPP para avaliação do efeito clarificante;
- Determinar o melhor método de homogeneização em meio aquoso, incluindo agitador mecânico, magnético, e banho ultrassom para a formação dos compósitos;
- Realizar planejamento fatorial completo, especificamente um delineamento composto central rotacional (DCCR) para investigar as melhores proporções entre os componentes para a produção de compósitos;
- Selecionar as melhores respostas dos compósitos aplicados a cerveja e caracterizar tais compósitos por meio de técnicas: Difratometria de Raios X (DRX); Espectroscopia no infravermelho por Trnasformada de Fourier (FTIR); Termogravimetria (TG) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Indicar as melhores condições dos compósitos aplicados à cerveja, quanto ao efeito de redução da turbidez, utilizando as superfícies de respostas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Neste item, são apresentados os fundamentos teóricos referentes aos componentes utilizados para o desenvolvimento dos materiais compósitos em estudo: hidróxidos duplos lamelares (HDL), Polivinilpirrolidona (PVP360) e Polivinilpolipirrolidona (PVPP). Além dos principais conceitos envolvendo nanocompósitos, são descritos também conceitos de cervejas, tipos de clarificantes existentes no mercado e as principais causas que contribuem com a turbidez em bebidas.

3.1. ARGILAS E ARGILOMINERAIS CATIÔNICOS E ANIÔNICOS

Os HDLs são classificados como argilas aniônicas, englobando representantes que podem ser encontrados na natureza, enquanto que diversos outros representantes sintéticos foram descritos na literatura (CREPALDI et al.,1998). De modo geral, as argilas têm sido amplamente empregadas na formação de compósitos e nanocompósitos para uso como materiais estruturais ou funcionais.

As argilas são sólidos inorgânicos de ocorrência natural, contendo grãos finos com diâmetros inferiores a 2 μm (TEIXEIRA-NETO et al., 2009) e compostos principalmente por silicatos hidratados, bem como hidróxidos mistos de alumínio ou magnésio, podendo conter outros elementos químicos. As argilas apresentam como principais características estruturais as chamadas estruturas cristalinas lamelares, ou seja, estruturas formadas pelo empilhamento de camadas bidimensionais de espessuras inferiores a 1 nm, bem como diâmetros médios em torno de 100 nm, formadas por unidades tetraédricas e/ou octaédricas em torno de cátions como Si^{4+}, Mg^{2+}, Al^{3+}, dentre outros (COELHO et al., 2007). Em virtude de sua estrutura e composição, as argilas são materiais hidrofílicos e são capazes de conferir propriedades de plasticidade durante o processamento de materiais aos quais sejam adicionadas, além de propriedades de intercalação de espécies como íons ou moléculas na região interlamelar e de atuar como cargas de reforço mecânico quando adicionadas a outros materiais como polímeros. Vale destacar aqui a distinção dos termos argila e argilomineral. As argilas são os representantes naturais, que apresentam partículas com diâmetros abaixo de 2 mm, e podem conter misturas de diferentes minerais específicos. Os argilominerais são associados a cada mineral específico que pode estar presente nas argilas, podendo ser naturais ou sintéticos, dispensando o critério de tamanho de partícula. Os argilominerais são classificados em catiônicos ou aniônicos, em termos da natureza das cargas elétricas das lamelas e do tipo

de íons necessários ao mecanismo de compensação de cargas (cátions ou ânions), como conseqüência das substituições isomórficas dos cátions que compõe a estrutura.

Os argilominerais catiônicos têm como representantes principais os filossilicatos, nos quais as estruturas são formadas por camadas contendo tetraedros $[MO_4]^{4-}$ onde M = Si^{4+}, Al^{3+}, Fe^{3+} e camadas contendo octaedros $[M(OH)_6]^{3-}$, onde M = Al^{3+}, Fe^{3+}, Mg^{2+}, que se conectam entre si pelo compartilhamento de arestas (BIBI et al., 2016; MIRANDA-TREVINO e COLES, 2003). A substituição parcial de Si^{4+} pelos cátions trivalentes (Al^{3+} ou Fe^{3+}) na camada tetraédrica, bem como a dos cátions trivalentes (Al^{3+} ou Fe^{3+}) por Mg^{2+} na camada octaédrica, geram deficiência de carga positiva nas lamelas, que são neutralizadas por meio da incorporação de cátions no espaço interlamelar. Neste contexto, para cada cátion de valência +4 substituído por um cátion de valência +3, a deficiência resultante deve ser compensada pela inserção de um cátion interlamelar de valência +1, sendo possível também que tal compensação se dê por cátions de valências mais altas -compensando a substituição de mais de um cátion original de valência +4. Paralelamente, ocorre a incorporação de moléculas de água na região interlamelar, por interações com os cátions compensadores, bem como com grupos hidroxilas das camadas. Adicionalmente, estes materiais possuem propriedades de troca catiônica, uma vez que é possível realizar a troca dos cátions interlamelares das argilas catiônicas por outros, em um processo conhecido como troca iônica (HUGGETT, 2021). A quantidade de íons trocados em uma argila é representada por uma propriedade conhecida como pela capacidade de troca catiônica, que relaciona a quantidade trocada para 100 g de argila (MARQUES et al., 2018).

Similarmente, no grupo das argilas aniônicas, os argilominerais a base de hidróxidos compostos por camadas octaédricas do tipo $[M(OH)_6]^{4-}$ onde M = Mg^{2+}, Al^{3+}, podem sofrer substituições isomórficas de uma fração dos cátions divalentes por cátions trivalentes. Neste grupo, o representante natural mais importante é a hidrotalcita e são também conhecidos como hidróxidos duplos lamelares. Por serem os materiais de interesse neste trabalho, os HDLs serão abordados em maiores detalhes em um tópico específico. O processo de substituição de cátions bivalentes por cátions trivalentes, por se dar no mesmo sítio e sem a formação de vacâncias, resulta em um excesso de cargas positivas nas lamelas. De forma análoga ao que se dá com as argilas catiônicas, nos HDLs o excesso de carga na lamela é compensado mediante a incorporação de ânions na região interlamelar, bem como moléculas de água. Os HDLs são extensivamente preparados em laboratório a partir de diferentes combinações de cátions divalentes e trivalentes, de tal

forma que atualmente uma ampla gama de HDLs com diferentes composições já foram descritos na literatura.

A literatura traz relatos de que argilas e argilominerais têm sido bastante estudados como adsorventes para espécies contaminantes de água, em virtude da alta capacidade de troca catiônica (CTC) e elevadas áreas superficiais (PARK, AYOKO, FROST, 2011; LEE; TIWARI, 2012). Adicionalmente, são empregadas como peneira molecular, como agentes de branqueamento e clarificação, bem como adsorventes, substratos de catalisadores, agentes filtrantes, em separação óleo-água, dentre outras aplicações. (MELO et al., 2000).

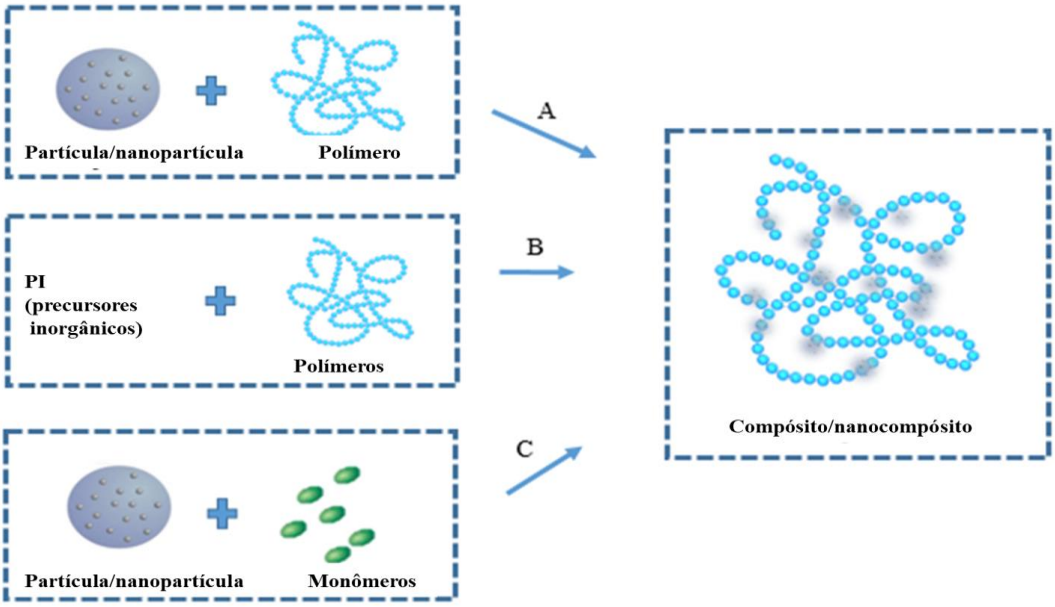
3.2. COMPÓSITOS CONVENCIONAIS E NANOCOMPÓSITOS

Os materiais compósitos são definidos como aqueles contendo dois ou mais constituintes, com propriedades físicas ou químicas distintas em relação aos precursores (GU et al., 2018) e abrangem uma ampla faixa em termos das dimensões dos componentes. Neste contexto, podem ser divididos em microcompósitos, também chamados de compósitos convencionais ou de fase separada, e nanocompósitos, nos quais se detecta um grau de mistura dos componentes na escala nanométrica. Os compósitos tradicionais, particularmente aqueles entre polímeros e argilas, foram desenvolvidos a fim de melhorar as propriedades mecânicas de materiais poliméricos (THEBERGE, 1982). No entanto, apesar de melhorar a rigidez, propriedades como resistência e elongação podiam ser deterioradas, o que levou ao desenvolvimento de nanocompósitos que, por definição, devem conter um dos componentes em escala nanométrica. (LEBARON et al., 1999). Neste contexto, existem três estratégias gerais para a preparação de compósitos e nanocompósitos de matriz polimérica, como pode ser observado esquematicamente na (Figura 1). Tais metodologias são baseadas em:

A) Mistura de componentes pré-formados, seja por mistura física ou por metodologias de homogeneização;

B) Crescimento *in situ* da carga inorgânica;

C) Polimerização *in situ* dos monômeros na presença da fase inorgânica.



Fonte: Próprio autor

FIGURA 1. Representação esquemática das estratégias gerais de preparação de nanocompósitos: A) Mistura de componentes pré-formados; B) crescimento in situ de nanopartículas e C) polimerização in situ dos monômeros na presença dos nanomateriais.

A preparação tanto de compósitos quanto de nanocompósitos requer uma distribuição uniforme de carga ao longo da matriz polimérica, bem como um grau satisfatório de adesão interfacial. Comparando-se as estratégias gerais, a mistura simples (A) é vantajosa do ponto de vista da simplicidade e curta duração operacional, número menor de etapas e baixo custo de processamento, bem como vantagens relativas a custos reduzidos. Quando a fase inorgânica não possui capacidade de fragmentar gerando uma mistura em nível nanométrico ao longo da matriz polimérica, a mistura simples se restringe à formação de microcompósitos.

As demais estratégias (B) e (C) envolvem processos químicos ou físicos para a geração dos compósitos/nanocompósitos, como a deposição a partir de vapor (HORIUCHI et al., 2007) ou a partir de solução (YONGTING, et al., 2023), por exemplo. Além disso, deve-se buscar metodologias específicas a depender do tipo de nanomaterial contido, como nanopartículas metálicas, carbonos nanométricos (GIRI et al., 2023) e argilas, dentre outro (SHAMEEM et al., 2021)

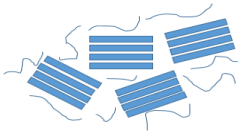
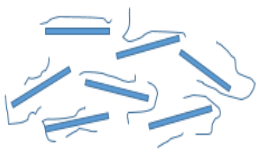
No caso específico de compósitos contendo estruturas lamelares como cargas, que configuram uma das classes mais disseminadas no mercado, vale destacar que a obtenção

industrial tem sido realizada predominantemente por mistura simples. Será dada maior ênfase a este tipo de componente inorgânico neste trabalho, pois se refere ao tipo de material ao qual os HDLs pertencem. A mistura simples tem potencial para gerar todas as arquiteturas de compósitos e nanocompósitos, dependendo da capacidade de intercalação e de esfoliação do material lamelar, que pode ser alterada por modificações químicas, bem como do tipo de polímero. A mistura simples de polímeros com cargas lamelares pode levar a nanocompósitos devido à possibilidade de expansão do espaço interlamelar.

Por outro lado, os materiais inorgânicos lamelares são geralmente hidrofílicos, o que faz com que seja necessário modificá-los quimicamente para ficarem compatíveis com o polímero e se dispersarem adequadamente na matriz polimérica. (ESTEVES et al., 2004). A funcionalização de materiais lamelares de modo a produzir argilas organofílicas é uma estratégia muito bem estabelecida, cujos métodos são simples e eficientes, sendo bastante aplicada no contexto de melhoramento mecânico. (BERYL et al., 2023) Neste caso, diversos estudos mostraram que a adição de pequenas quantidades de nanopartículas inorgânicas de argila (<5%) melhora consideravelmente o desempenho dos polímeros. (MURUGESAN et al., 2020). Esses nanocompósitos poliméricos exibem excelentes propriedades em termos de biodegradabilidade, propriedades autoextinguíveis, deformação térmica, propriedades de flexão, resistência à tração e alto módulo de elasticidade. (ZHAO et al., 2015; MU et al., 2018; HORNBOGEN, 2006).

A Tabela 1 apresenta um breve destaque dos tipos e estruturas de diferentes nanocompósitos/compósitos argila-polímeros.

TABELA 1. Tipos e estruturas de diferentes nanocompósitos argila-polímero.

Nanocompósitos separados por fases	Nanocompósitos intercalados	Nanocompósitos esfoliados
Dispersão fina de minerais de argila de tamanho micro em uma matriz polimérica. Até recentemente, este também era o método tradicional de fazer compósitos de polímeros de argila.	As cadeias poliméricas são intercaladas na intercamada dos minerais argilosos de maneira bem ordenada.	Camadas de argilominerais são separadas, resultando em uma dispersão desordenada de cada camada na matriz polimérica.
		

Fonte: Proprio autor

Tais materiais em escala nano ou micro são conhecidos como nanocompósitos/compósitos argila-polímeros (BERGAYA et al., 2013). Existem três classes principais de nanocompósitos/compósitos argila-polímeros; (i) nanocompósitos esfoliados, (ii) nanocompósitos intercalados e (iii) microcompósitos de fases separadas (MUKHOPADHYAY et al., 2014).

Nos nanocompósitos esfoliados, as lamelas dos argilominerais com espessuras nanométricas se encontram completamente dispersas na matriz polimérica (Tabela 1). Este tipo de nanocompósito é o mais apropriado para a maioria das aplicações que necessitem de propriedades mecânicas aprimoradas, pois a configuração resultante é capaz de dissipar de modo eficiente as solicitações mecânicas por meio das cargas de reforço. Por outro lado, nos nanocompósitos intercalados, partículas não esfoliadas do argilomineral contendo cadeias poliméricas inseridas entre as lamelas são encontradas dispersas na matriz do polímero. Ou seja, a presença de lamelas empilhadas persiste da mesma forma que no argilomineral original, porém com espaçamento maior entre as lamelas devido à presença das cadeias poliméricas (Tabela 1). Em termos de propriedades mecânicas, este tipo de nanocompósito tem limitações decorrentes do grau menor de dispersão, quando comparado com os esfoliados, porém é muito vantajoso no contexto de liberação controlada de espécies intercaladas, como fármacos, fertilizantes e defensivos agrícolas (DALIA et al., 2021).

Por fim, nos microcompósitos de fase separada, os componentes não interagem até o ponto de haver separação das lamelas ou inserção de cadeias poliméricas entre as lamelas do argilomineral e os componentes se mostram na forma de fases totalmente distintas. A argila permanece como partículas nas quais as lamelas mantêm sua estrutura original em termos de valor de espaçamento e de composição da região interlamelar, podendo se apresentar na forma de aglomerados de partículas. O contato com a fase polimérica geralmente não envolve um recobrimento completo e apresenta falhas, canais, vãos etc. No entanto, é importante frisar que tal tipo de arranjo pode ser vantajoso para aplicações funcionais que se beneficiem da natureza química diversa dos componentes bem como da presença destes espaços interpartícula, como a adsorção.

A avaliação do tipo de arquitetura presente em um microcompósito ou nanocompósito pode ser realizada através de técnicas como difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (JAMSHIDIAN et al., 2012; GONG et al., 2014; PESETSKII et al.,2021). Diferentes morfologias para compósitos polímero-argila tais como fase separada, intercalada e esfoliada evidenciadas nas imagens MET e em

difração de raios X são exibidas na Figura 2. A imagem MET do compósito de fase separada (Figura 2a) mostra as partículas do argilomineral com tamanhos elevados e sem evidências visuais de separação das lamelas, juntamente com um difratograma tipicamente idêntico ao do argilomineral original (Figura 2d). Por outro lado, as imagens dos nanocompósitos intercalados (Figura 2b) e esfoliado (Figura 2c) mostram lamelas empilhadas e isoladas, respectivamente. Com relação aos difratogramas, estes mostram o pico atribuído ao deslocamento para valores mais baixos do ângulo de difração para os nanocompósitos intercalados (Figura 2e) e diminuição ou desaparecimento do pico referente ao plano basal para os nanocompósitos esfoliados (Figura 2f).

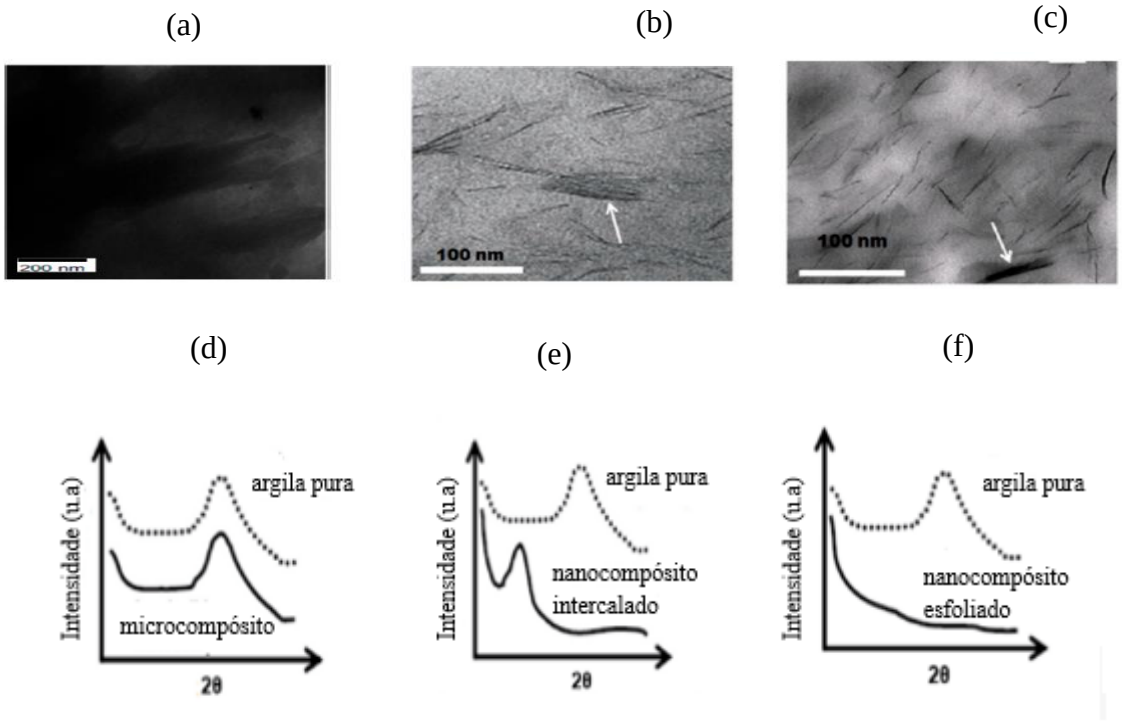


FIGURA 2. Imagem de MET típica de (a) argila original; (b) argila intercalada; (c) lamelas esfoliadas, extraída do artigo de acesso aberto (DALIA et al., 2021).

Nos tópicos a seguir, serão apresentados os aspectos fundamentais dos componentes escolhidos para a obtenção dos compósitos neste trabalho: os hidróxidos duplos lamelares e os polímeros polivinilpirrolidona e polivinilpolipirrolidona, bem como tópicos relativos à aplicação na clarificação de cerveja.

3.3. HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

A descoberta de argilas aniônicas é marcada pela descrição do mineral hidrotalcita em um relatório sueco em 1842, como um mineral branco facilmente pulverizável.

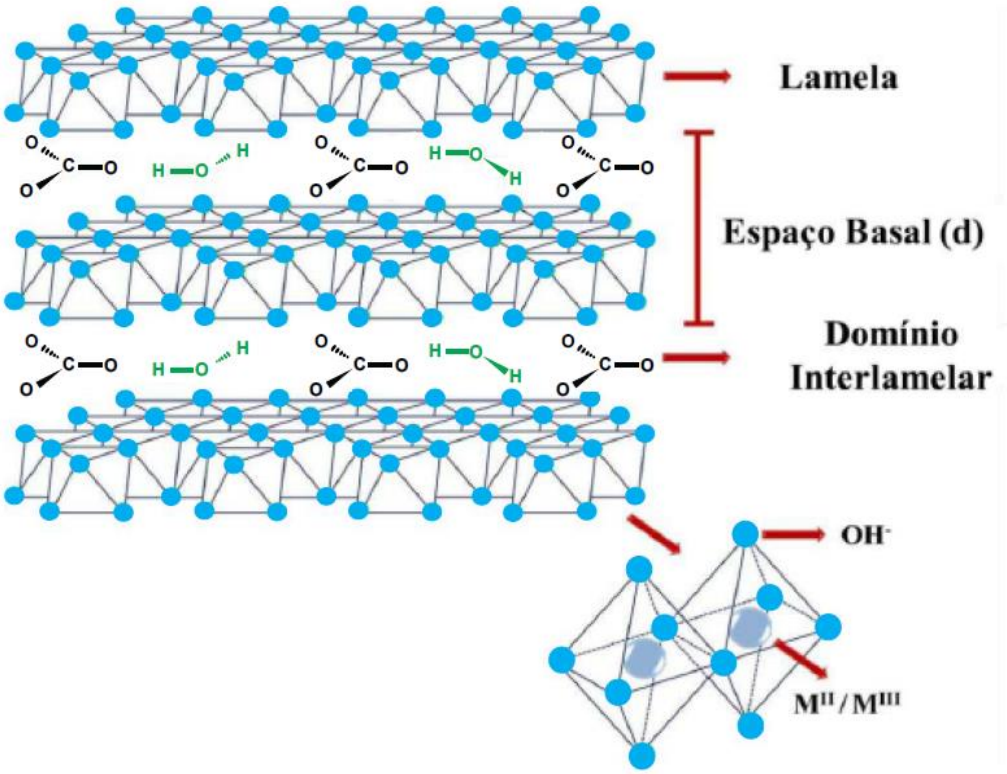
(CAVANI, 1991). Para descrever as estruturas dos HDLs, é comum usar como ponto de partida as lamelas presentes no mineral brucita ($Mg(OH)_2$), que é um hidróxido lamelar simples. A estrutura da brucita apresenta íons Mg^{+2} situados no centro de octaedros de coordenação contendo hidroxilas nos vértices, como ilustrado na Figura 3. A troca de uma fração dos cátions M^{II} em seus respectivos sítios por cátions M^{III} nas lamelas desses compostos faz com que as mesmas se tornem carregadas positivamente, o que requer a inserção de ânions entre as lamelas a fim de realizar a compensação das cargas (ROJAS, 2012). Com isso, os ânions são ligados eletrostaticamente às lamelas adjacentes, em contraste com o predomínio de ligações de hidrogênio quando as lamelas são neutras no hidróxido simples, garantindo o empilhamento de um número elevado de lamelas. A fórmula geral completa dos hidróxidos duplos lamelares é mostrada na Equação 1 e de modo simplificado na Equação 2:

$$[M^{II}_{1-x}M^{III}_{x}(OH)_2](A^{n-})_{x/n}.mH_2O \qquad \text{(Equação1)}$$

$$M^{II}M^{III}\text{A-HDL} \qquad \text{(Equação 2)}$$

Nestas fórmulas, M^{II} representa o cátion divalente (Mg^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, etc.), M^{III} representa o cátion trivalente (Al^{3+}, Cr^{3+}, Fe^{3+}, etc.) e A^{n-} se refere ao ânion presente entre as lamelas (CO_3^{2-}, Cl^-, NO^-_3, etc.). Cada M^{II} substituído por M^{III} gera uma carga positiva adicional, que deve ser compensada por um ânion X^{-1}. Analogamente um ânion X^{2-} irá compensar a substituição de dois cátions M^{II}. Por fim, x é razão entre os cátions divalentes e trivalentes e m é a quantidade de matéria de água (ZHU et al., 2005).

Conforme mostrado na Figura 3, a estrutura dos HDL's é formada por unidades octaédricas básicas contendo cátions metálicos M^{2+} ou M^{3+} no centro, hexacoordenado por ânions hidroxila e contendo ânions hidratados (A^{n-}) entre as lamelas, tendo $[M^{2+}_{(1-x)}M^{3+}_{x}(OH)_2](A^{n})_{x/n}.H_2O$ (MORAES et al., 2019) como fórmula básica.



Fonte: Adaptado de Moraes et al. (2016).

FIGURA 3. Representação esquemática da estrutura dos HDLs.

3.3.1. Estrutura Cristalina da Hidrotalcita

As estruturas dos HDLs, como já descrito, derivam daquela do mineral brucita, $Mg(OH)_2$, em cujas camadas cátions Mg^{2+} ocupam sítios octaédricos com seis OH^- grupos nos vértices, nos quais os átomos de H se apresentam orientados em direção ao espaçamento entre as camadas. Na brucita, os octaedros são interconectados através de arestas, gerando lamelas neutras ligadas por ligações de hidrogênio. Mediante substituições de íons M^{2+} por M^{3+}, formam-se folhas carregadas positivamente, de modo que a estrutura só atinge a eletroneutralidade mediante intercalação de espécies aniônicas entre as lamelas. Vale destacar que cada cátion bivalente substituído implica a entrada de um cátion trivalente, de modo que não são geradas vacâncias como na hipótese de três cátions bivalentes serem compensados pela entrada de dois cátions trivalentes (o que preservaria a eletroneutralidade com a criação de uma vacância. Portanto, na ausência de vacâncias, o excesso de carga positiva é a força motriz da acomodação de ânions e, juntamente com ligações de hidrogênio também ocorrem interações eletrostáticas, que regulam o resultado disposição das camadas (POURFARAJ et al., 2017).

A estrutura cristalina derivada do empilhamento de camadas pode ser romboédrica ou hexagonal, porém a maior parte dos HDLs sintéticos exibe células unitárias romboédricas R-3. Um requisito importante para a estabilidade do HDL é que os cátions localizados nos sítios octaédricos devem ter raios iônicos semelhantes e em geral a relação M^{2+}/M^{3+} está entre 1 e 6. Ou seja, existe um limite no grau de substituição relacionado à estabilidade da estrutura, bem como graus muito baixos de substituição não são suficientes para originar as propriedades típicas. Em princípio, não há limitações em termos da natureza das espécies aniônicas que podem equilibrar as cargas residuais positivas. Foi observado que espécies inorgânicas simples com alta relação carga/raio entram mais facilmente nas camadas HDL, porque também melhoram a interações eletrostáticas. Para ânions orgânicos, outros fatores, como sua geometria, tamanho e sua interação mútua são particularmente importantes para a intercalação.

3.3.2. Variabilidade de composições de Hidróxidos Duplos Lamelares

A possibilidade de formação de HDLs contendo cátions diferentes em relação às composições encontradas na natureza ensejou inúmeros estudos, considerando a variabilidade de propriedades que poderiam ser conferidas a estes materiais. A Tabela 2 apresenta composições químicas conhecidas para HDLs, bem como identidades de M^{2+} e M^{3+} que podem estar presentes nas composições de HDLs.

TABELA 2. Combinação de cátions divalentes com trivalentes que produzem HDL

Cátions										Trivalentes					
Divalentes	Al	Fe	Cr	Co	Mn	Ni	Sc	Ga	Ti*	La	V	Sb	Y	In	Zr*
Mg	X	X	X	X	X		X	X		X	X	X	X	X	X
Ni	X	X	X	X	X	X		X		X					
Zn	X	X	X					X	X						
Cu	X		X												
Co	X	X	X	X					X	X					
Mn	X		X		X			X							
Fe	X	X													
Ca	X														
Li**	X														
Cd	X														

*tretavalente, ** monovalente Fonte: Adaptado de Benício et al.,2015.

Dada a coordenação octaédrica em torno de cátions metálicos na estrutura dos HDLs, isso restringe os raios iônicos a valores entre 0,50 e 0,74 Å. Cátions di- e

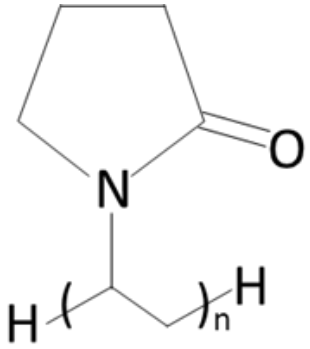
trivalentes capazes de compor camadas HDL são selecionados tendo como critério seus raios iônicos, que se observa serem próximos ao valor do do Mg^{2+} (0,72 Å em um sítio hexa-coordenado). (JAYANTHI et al., 2017). Esta condição é satisfeita por vários cátions metálicos, incluindo Zn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}, Co^{2+}, Co^{3+}, Ni^{2+}, Ni^{3+}, Mn^{2+} e Mn^{3+}. O valor x, que representa fração de cátion trivalente na camada, é outro parâmetro ajustável e uma fonte de diversidade de composições e propriedades dos HDLs. Ao alterar x, a densidade de carga nas camadas pode ser modulada e, como consequência, a quantidade de ânions além do arranjo entre as camadas (PIGNA et al., 2016).

Para minerais, x costuma ser igual a 0,25 (razão molar M^{2+}/M^{3+} igual a 3), enquanto para HDLs sintéticos verifica-se que se situa entre $0,2 \leq x \leq 0,33$, em geral, o que significa razões molares M^{2+}/M^{3+} entre 4 e 2. Valores de x fora dessa faixa podem fazer com que se formem os hidróxidos simples $M(OH)_2$ e $M(OH)_3$ como fases segregadas. (PIGNA et al., 2016). Além disso, quando x é menor que 0,33, a regra de Pauling restringe a ocupação de sítios metálicos adjacentes por cátions trivalentes, ou seja, não é permitido que um cátion trivalente ocupe um sítio vizinho a outro cátion trivalente (BAIG et al., 2017). Como o parâmetro de célula a (igual a b) é dependente dos raios iônicos de M^+ e M^{3+}, ele pode indicar se a incorporação dos cátions ocorreu em concordância com o valor nominal de x. Finalmente, os HDLs são estruturas propícias para a ocorrência de interações hóspede-hospedeiro, onde o espaço interlamelar pode acomodar desde pequenos ânions inorgânicos simples (como Cl^-, NO_3^- ou CO_3^{2-}) até macroestruturas como macromoléculas de ácido desoxirribonucléico (DNA) ou plasmídeos. (LI et al., 2019). Essa capacidade é extremamente promissora para aplicações desde carreamento e liberação de fármacos e pesticidas, até remediação ambiental e formação de compósitos.

3.4. POLIVINILPIRROLIDONA

A polivinilpirrolidona ($(C_6H_9NO)_n$, PVP), conhecida também como povidona, é um polímero sintético com cadeias lineares, de caráter não iônico, amorfo e que é obtido a partir da polimerização de N-vinil-2-pirrolidona. A PVP tornou-se um polímero amplamente utilizado para a estabilização de nanopartículas, bem como controle morfológico, em virtude de grupos funcionais presentes como é mostrado na Figura 4. É um polímero que tem sido bastante empregado como agente quelante em rotas de preparação de nanopartículas, conferindo estabilidade coloidal, controle de tamanhos e

de morfologias (BIANCO et al., 2003; ELSABEE & ABDOU, 2013; KURAKULA & RAO, 2020).



Fonte: Próprio autor

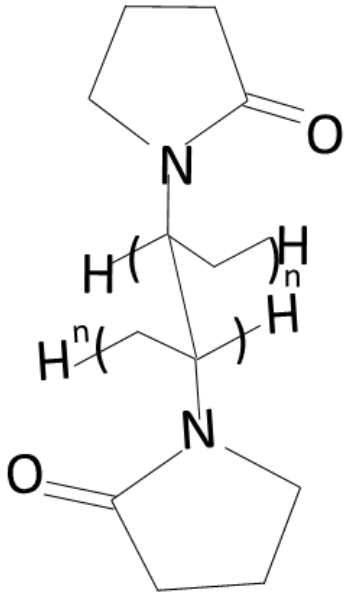
FIGURA 4. Estrutura química do polímero polivinilpirrolidona

A PVP é um polímero que apresenta propriedades atrativas para várias aplicações tais como biomédicas e como aditivo na preparação de nanomateriais, incluindo biocompatibilidade, solubilidade aquosa elevada e estabilidade química. (BIANCO et al., 2003; ELSABEE & ABDOU, 2013; P. FRANCO & DE MARCO, 2020). Na literatura, o uso bem sucedido desse polímero como clarificante pode ser encontrado em diversos trabalhos, sendo também bastante utilizado na adsorção de polifenóis em virtude das ligações de hidrogênio que podem ser formadas entre os pares de elétrons do nitrogênio do polímero e grupos OH dos polifenóis (BRIGGS et al., 2014). As interações entre polifenóis e polímeros como PVP e PVPP são análogas às interações entre proteínas ricas no aminoácido prolina e polifenóis, devido à semelhança que existe entre a estrutura do polímero e do aminoácido prolina (NACHEL, 2008). Neste contexto, as interações entre proteínas ricas em prolina e polifenóis são bem conhecidas e a presença deste tipo de proteínas na saliva de seres vivos é considerada como a base de um mecanismo de defesa via reconhecimento molecular, contra a ingestão de taninos prejudiciais à saúde, além de ser considerado um mecanismo de defesa de plantas contra seu consumo como alimento.

3.5. POLIVINILPOLIPIRROLIDONA

A Polivinilpolipirrolidona (PVPP, Figura 5) é um polímero insolúvel em água, que pode ser sintetizado por polimerização a partir de monômeros ou condensação de cadeias de PVP, que é solúvel em água, gerando uma estrutura tridimensional que adquire insolubilidade. É uma amida cíclica cujo anel também é chamado de lactama. É um pó

branco de ponto de fusão 220 °C e estrutura amorfa, contendo um sítio de ligação complementar ao aminoácido prolina.



Fonte: Próprio autor

FIGURA 5: Estrutura química da PVPP.

A PVPP depois do uso removido é comumente utilizada em bebidas, tais como cervejas, vinhos e sucos com o propósito de remover os polifenóis, a fim de evitar a formação de turbidez na bebida (BRIGGS et al., 2014). A capacidade da povidona reticulada insolúvel (PVPP) de se ligar a polifenóis surge neste contexto como clarificante bastante eficiente mesmo em teores reduzidos. Adicionalmente, tem sido aplicado como clarificante de cervejas devido à especificidade frente a adsorção de polifenóis tipicamente presentes durante o processamento desta bebida, além de prevenir alterações de sabor provenientes da oxidação de compostos da classe dos flavonóides. (LE BOURVELLEC et al., 2019.). Trabalhos prévios encontrados na literatura revelaram a versatilidade de polifenóis que podem ser removidos por PVPP, incluindo: catequina, epigalocatequina, epicatequina prodelfinina B3, galocatequina, procianidina B3 e proantocianidinas (MASTANJEVI´C et al., 2018).

3.6. CERVEJAS

A redação do artigo 36 do Decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019 define que “cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada

malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro". A composição é resumido na Figura 6 (BRASIL, 2019).

Fonte: Próprio autor

FIGURA 6. Composição química da cerveja

De modo geral, as cervejas podem ser preparadas de duas formas principais, a industrial e a artesanal. As cervejas industriais são fabricadas em larga escala por grandes empresas e comercializadas em praticamente todos os territórios do país. Por outro lado, por serem produzidas em quantidades comparativamente inferiores que as industriais, as cervejas artesanais apresentam um custo mais elevado, porém envolvem uma diversidade maior de produtos em termos de estilo, com graus de qualidade mais variados.

A ABRACERVA (Associação Brasileira da Cerveja Artesanal) define a cerveja artesanal como de qualidade superior, produzida por cervejarias independentes que estejam devidamente registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estas cervejarias não têm ligação com grandes conglomerados econômicos e a produção mensal não excede 416 mil litros. Segundo a *Brewers Association*, associação norte-americana de cervejeiros artesanais, a cerveja artesanal é aquela produzida por cervejarias independentes. Além disso, a posse de tais cervejarias não deve ultrapassar os 25% por parte de um membro da indústria de bebidas alcoólicas, ficando o volume de produção também restrito a um teto de 714 milhões de litros/ano. O incentivo à inovação é um dos intuitos de tal definição, pois visa a impulsionar a releitura de estilos clássicos, bem como a criação de novos estilos, porém sem abrir da qualidade dos insumos tradicionais e do

sabor do produto final. Devido à escala reduzida de produção, os produtores de cerveja artesanal possuem menos poder de negociação, o que pode resultar em custos mais altos. Por outro lado, a cerveja industrial é produzida em grandes quantidades, com processos mais rápidos e ingredientes com custo reduzido, permitindo preços acessíveis ao consumidor. Essa redução de custo é alcançada através do maior poder de negociação dos produtores em relação aos insumos, bem como da rapidez de produção que pode ser de menos de 24 horas. Adicionalmente, os custos também podem ser diminuídos pela troca do malte de cevada por fontes a base de cereais diversos. (MORADO, 2017).

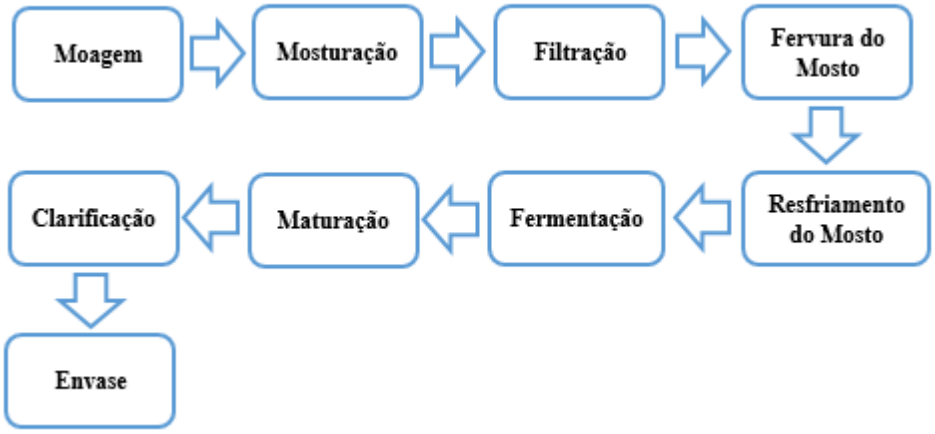
3.6.1. Cerveja industrial e artesanal: Principais Diferenças

Considerando-se que as cervejarias de grande porte operam em produção de larga escala, visando a comercialização, enquanto que os produtores de cervejas artesanais visam ao consumo próprio e à distribuição em pequena escala, as cervejas artesanais são mais propícias a testes de inovação como é o caso de novos clarificantes. Adicionalmente, tem sido percebidas por setores no âmbito consumidor como produtos diferenciados, conquistando um espaço relevante.

A cerveja industrial, apesar de já consolidada no mercado nacional, está em constante aprimoramento para produzir produtos cada vez mais de qualidade e com custos mais baixos, com o objetivo de se manter neste setor cada com nível ascendente de exigência. (ALMEIDA e BELO, 2017). A importância crescente da cerveja artesanal entre os consumidores de cerveja produzida industrialmente, principalmente aqueles que preferem uma cerveja mais refinada, dada uma maior diversidade de tipos bem como sabores mais marcantes que as demais. (FLORES et. al., 2015). A principal distinção entre a cerveja artesanal e a cerveja comercial geralmente são descritas em função das matérias primas empregadas na produção da bebida, pois além de componentes fundamentais como água, malte, lúpulo e fermento comum entre os dois tipos de produção, são adicionados ingredientes mais criteriosamente selecionados para melhoramento. Além dos ingredientes básicos, esse tipo de cerveja permite uma elaboração mais diversificada em relação ao sabor, aroma e teor alcoólico. Outras características do processo são o modo artesanal das etapas, a baixa tecnologia de produção e, portanto, de forma mais controlada, em menor escala e além da ausência de aditivos aceleradores do processo. (FLORES et al., 2015).

As etapas envolvidas na produção de ambos os tipos de cervejas são análogos, envolvendo moagem do malte e mistura das matérias-primas com água gerando o caldo

conhecido como mosto de cerveja, tratamento do mosto por enzimas, fervura deste, seguida de tratamentos que envolvem remoção de sólidos sedimentados, resfriamento e aeração. Na seqüência, procede-se à fermentação, na qual se mistura a levedura com o mosto, o que induz o consumo de carboidratos fermentáveis, gerando CO_2 e álcool etílico. Depois ocorre a maturação em que o sabor da cerveja é aprimorado, seguida da clarificação, filtração e envase (ROSA e AFONSO, 2015). A figura 8 apresenta as quatro etapas que envolve o processo de fabricação da cerveja.



Fonte: Próprio autor

FIGURA 7. Fluxograma do processo de produção de cerveja

Com próposito de esclarecer sobre os tipos de cervejas artesnais mais produzidos, a principal distinção está relacionada com o tipo de fermentação, uma vez que irá definir a classificação da cerveja que são divididas em dois grandes categorias: as Ale e as Lagers, que diferem entre si devido ao tipo de processo da fermentação que ocorre na produção da cerveja, sendo baixa fermentação para as cervejas do tipo Ale e alta fermentação para as Lagers. Como já descrito, as Ale, são processadas por alta fermentação, as leveduras atuam em temperatura entre 14-25 °C, abrangendo estilos como Weissbier, Porter, Brown Ale e Pale Ale. As Lager, são produzidas por baixa fermentação (até 12 °C), o processo de fermentação ocorre de forma mais lenta devido ao tipo de fermentação e resulta em um produto final que apresenta uma coloração mais clara. São representadas principalmente pela Pilsen e Bock. A diferença entre elas se devem à percepção do lúpulo e aos metabólitos formados na fermentação (DONADINI et al., 2017, STRONG E ENGLAND, 2015).

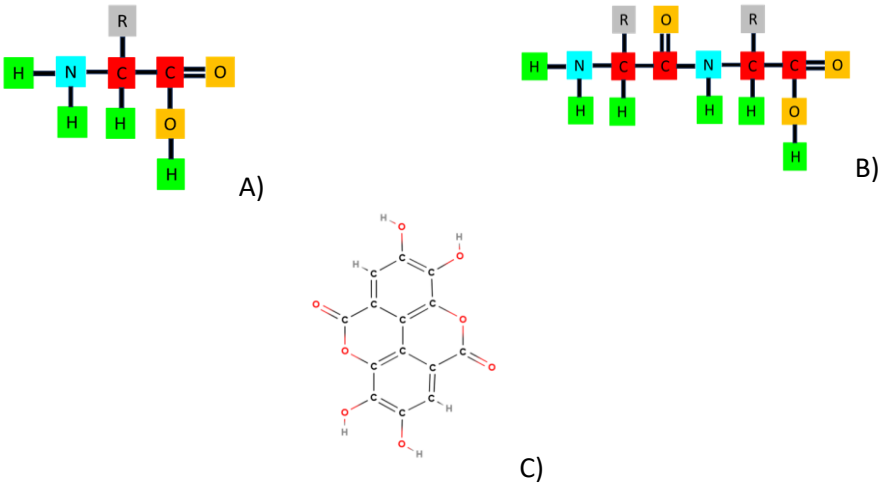
As cervejas do tipo Pale Ale representam os estilos de cervejas de alta fermentação mais reconhecidas e aceitadas pelos consumidores. O nome dessa categoria está

relacionado à sua tonalidade, que se destaca por ser mais clara em comparação com outras Ales conhecidas (Pale, do inglês “pálido”), apresentando uma coloração que varia de palha a dourado. Outro aspecto significativo atribuído a esse tipo de cerveja é o seu aroma pronunciado, sendo geralmente mais incorporadas, amargas e aromáticas em comparação com as Pilsen (BJCP, 2021).

O tipo de cerveja Pale Ale (APA) no seu contexto geral apresenta característica refrescante, lupada com coloração clara alternando do dourado ao âmbar claro. Esta categoria de cerveja destaca-se pelo emprego de lúpulos e maltes de origem americana, conferindo à bebida um aroma pronunciado, além de sutis notas de dulçor que são características desses ingredientes. (BJCP, 2021).

3.6.2. Parâmetros qualitativos da cerveja que exercem influência na clarificação

Um dos fatores importantes para a estabilidade da cerveja é mantê-la clara e brilhante. As embalagens contendo a cerveja devem ser resistentes a condições extremas que podem ocorrer durante o tempo de prateleira do produto, tais como alterações abruptas de temperatura. Umas das principais causas da turbidez decorre na etapa da produção da cerveja, em especial na preparação do mosto. Como já descrito, a cerveja pode conter partículas insolúveis formadas pela precipitação de proteínas por interação com polifenóis como taninos, que ocorre durante a produção do mosto cervejeiro. Tais polifenóis são originários da própria cevada e do lúpulo e são extraídos juntamente com as proteínas, resultando na turbidez. (ESSLINGER, 2009).



Fonte: Próprio autor

FIGURA 8. (A) Estruturas genéricas de aminoácidos; (B) Estruturas genéricas de um dipeptídeo, formado pela ligação peptídica unindo dois aminoácidos; (C) estrutura do ácido elágico, como exemplo de polifenol.

A magnitude desta tendência na formação de turbidez depende da natureza e qualidade dos ingredientes, das variáveis empregadas nas etapas de fervura do mosto e de fermentação no tanque, especialmente a duração de tais etapas. A fase chamada de maturação, a depender da temperatura em que é realizada, pode também influenciar significativamente o resultado final em termos de turbidez. A (Figura 7) mostra representações das estruturas dos componentes dos complexos proteína-polifenol, que podem atingir tamanhos na faixa micrométrica e são os responsáveis pela turbidez de diversas bebidas, não só as cervejas.

3.7. TURBIDEZ

Como já mencionado em relação aos fatores que levam a turbidez, é de suma importância destacar que a presença de partículas suspensas na cerveja gera a chamada névoa, que atenua a transmissão da luz. Tais partículas resultam da contribuição de vários tipos de estruturas presentes, como células de leveduras, proteínas e complexos proteínas-polifenóis. Estes três grupos podem representar até 75% da turbidez da cerveja, com particular destaque para proteínas-polifenóis (BAMFORTH, 2017). Assim, a composição da turbidez da cerveja pode variar amplamente. A turbidez pode ser reversível, quando só aparece a temperaturas baixas, em torno de 0°C e que se dissipa conforme a temperatura aumenta, havendo também a turbidez irreversível que pode se instalar se o produto for mantido a baixas temperaturas por tempos excessivamente longos (ESSLINGER, 2009). O efeito de turvação pode ser eliminado em várias etapas da fabricação da cerveja, incluindo a separação de proteínas que coagularam na etapa de fervura, a separação durante a fermentação uma vez que o abaixamento do pH também favorece a sedimentação de proteínas e finalmente a separação de estruturas formadas pela adesão de proteínas a leveduras e que sedimentam na maturação.

3.8. AGENTES CLARIFICANTES

A clarificação é fundamental para garantir a estabilidade coloidal da cerveja a longo prazo (BAMFORTH, 2017). Não é apenas a mitigação da turbidez com objetivos estéticos e de exigência por parte do consumidor que justifica a clarificação, pois a presença destes resíduos implica perdas de propriedades organolépticas desejáveis, como por exemplo alterações do sabor, aroma e textura do produto.

De uma forma geral, na fabricação de diversas bebidas, é realizado um processo de clarificação para dar uma aparência clara ao produto. Existem vários métodos para

isso, sendo a filtração um dos mais utilizados. No entanto, esse processo pode torná-lo turvo posteriormente, comprometendo parâmetros de qualidade da sua bebida. Essa turbidez ocorre quando a bebida é resfriada a aproximadamente 0°C, tornando o complexo de polifenóis e proteínas torna-se insolúvel.

A indústria de bebidas como vinho, sucos e cerveja faz uso amplo de agentes clarificantes a fim de mitigar a formação de névoas que levam a turbidez. Dentre os mais conhecidos, tem-se: polivinilpolipirolidona (PVPP, chamada de Polyclar ou povidona), Clear Max MF (ácido tânico), gelatina, goma carragena, Biofine Clear (colágeno ou cola de peixe), diatomita e sílica gel, amido, dentre outros. Os clarificantes comerciais devem ser capazes de interagir com um dos ou ambos tipos de componentes capazes de formar os complexos insolúveis (BRIGGS et al., 2014).

Como exemplo dos mecanismos de ação, os clarificantes a base de colágeno ou gelatina geralmente possuem cargas positivas até pH 9 (a chamada gelatina A) e, deste modo, são capazes de interagir e precipitar fragmentos negativos de proteínas que são então removidas levando a uma estabilidade muito satisfatória (STEWART, 2018). No caso das carragenas, pertencentes à família dos polissacarídeos de origem marinha e que possuem cargas negativas (WARD, 2023), a clarificação ocorre com compostos carregados positivamente como outros tipos de fragmentos de proteínas WARD,2023), gerando flocos de dimensões elevadas que podem ser removidos por turbilhonamento (BRIGGS et al.,2004). O amido, assim como os demais polissacarídeos, apresenta grupos funcionais hidroxilas que são propícios para funcionalizações químicas a fim de melhorar sua estabilidade durante o processamento, propriedades de gelificação, transparência óptica do gel além da inserção de cargas positivas ou negativas às cadeias. (BENINCA et al., 2013). Isto faz com que os chamados amidos modificados possam ser planejados a fim de interagir com leveduras, proteínas e polifenóis existentes na etapa de maturação. (KAUR et al., 2012). Os clarificantes a base de sílica como sílica gel ou diatomita são adsorventes de afinidade geral, podendo se ligar a polipeptídeos de caráter hidrofílico, bem como a polifenóis de massa molar elevada. O PVPP, um dos componentes do nanocompósito desenvolvido neste trabalho, é apresentado na literatura como um clarificante específico para remoção de polifenóis devido a possibilidade de interagir pelos pares de elétrons não compartilhados do nitrogênio com as hidroxilas dos polifenóis (BRIGGS, et al., 2014).

Apesar da existência de clarificantes bem estabelecidos e de métodos de separação como microfiltração (GAN, et al., 2001), verifica-se uma busca por alternativas que

reúnam simplicidade, eficiência e aplicabilidade ampla. Neste contexto, Verma e colaboradores estudaram a produção da enzima laccase sobre resíduos da indústria cervejeira e avaliaram o efeito da própria enzima como floculante e clarificante da bebida, com resultados promissores (DHILLON et al., 2012). Em uma revisão recente, as vantagens e desvantagens de diversas estratégias de clarificação destacou que o uso de diatomita como filtrante depende de fatores como forma e tamanho de partículas, impactando a cinética do processo, bem como geração de volumes elevados de resíduos, de difícil disposição (KAHLE et al., 2021). Tais problemas têm motivado a busca por novos filtros como a base de fibras de celulose, que requerem várias etapas de processamento prévio, bem como membranas compósitas de PVPP e poliestireno, desenvolvida pela BASF.

A sílica-gel, por outro lado, atua adsorvendo proteínas que são particularmente associadas à formação de névoas e turbidez. Outros clarificantes são bentonita via adsorção de proteínas, tanino via precipitação de proteínas, papaína e amilase pela degradação de proteínas e EDTA pela complexação de cátions metálicos. Apesar dos processos majoritários de formação de turbidez, vários processos concomitantes contribuem para a geração de névoas e sedimentos, motivando pesquisas na área. As pesquisas mais recentes por novos clarificantes revelaram a potencialidade de carragenas, polissacarídeos contendo cargas negativas produzidos por algas e que tem propriedades de formação de hidrogéis e que, no caso, são capazes de interagir com proteínas carregadas positivamente (SALURI et al, 2019). Proantocianidinas do próprio lúpulo podem serem eficientes (LINFORTH et al., 2015). Quitina e quitosana foram testadas em comparação com bentonita, observando-se que ambas mostraram desempenho superior ao da bentonita (GASSARA, et al., 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção discorre sobre os materiais e metodologias que foram utilizados nas etapas de produção dos compósitos, elaboração do planejamento experimental, aplicação dos compósitos a cerveja artesanal e caracterização destes compósitos. Com o intuito de facilitar o entendimento do leitor, cada etapa é apresentada separadamente com respectiva metodologia.

4.1. MATERIAIS

Para a preparação dos compósitos foram utilizados os seguintes materiais

descritos na Tabela 3.

TABELA 3. Materiais utilizados para produção dos compósitos

PRODUTO	ORIGEM	FÓRMULA	MASSA MOLAR
HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR (COMERCIAL)	Synthetic Hydrotalcite; Sigma	$CH_{16}Al_2Mg_6O_{19}.4H_2O$	603,98g/mol
POLIVINILPIRROLIDONA (PVP)	Sigma- Aldrich	$(C_6H_9NO)n$	360.000Daltons
POLIVINILPOLIPIRROLIDONA (PVPP)	Sigma- Aldrich	$(C_6H_9NO)n$	Não informada

Fonte: Próprio autor

4.2. PRIMEIRA ETAPA: AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA METODOLOGIA DE HOMOGENEIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS

O HDL comercial e as amostras de polivinilpirrolidonas: PVP360 e PVPP foram utilizadas para a produção de compósitos como testes preliminares, em suspensão, assistida por métodos de homogeneização utilizando o banho ultrassom, da marca Elmasonic P (Elma Schmidbauer GmbH), do Laboratório de Aplicações Nanotecnológicas (LAN.UFS), com potência máxima de 700W frequência de 20kHZ; agitador mecânico da marca Fisatom, modelo 71 e agitador magnético com aquecimento da marca KASVI com temperatura de 50°C e 1200 rpm. Esses testes preliminares para elaboração dos compósitos bem como a caracterização dos mesmos foram realizados para entender o tipo de compósito que estavam sendo formados.

Para cada compósito com avaliação preliminar preparado, foram utilizadas quantidades de HDL/PVP nas proporções indicadas na Tabela 4 elaborados com os três métodos homogeneizadores citados acima. Ressaltando que nesses testes preliminares não foram adicionados o PVPP, por se tratar de um polímero insolúvel em água, em princípio, não é esperado nenhum efeito de esfoliação ou intercalação com o HDL.

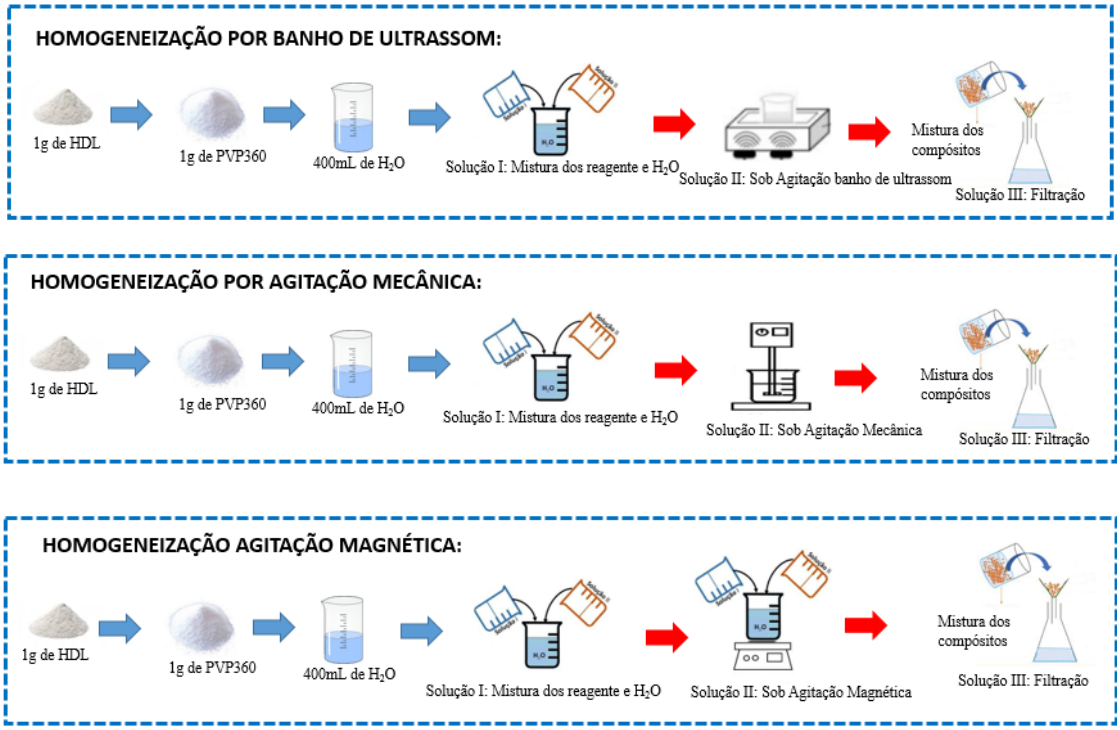
TABELA 4. Proporções utilizadas para a formação dos nanocompósitos

HDL (g)	PVP360 (g)	ÁGUA DESTILADA	PROPORÇÕES
1	1	400 mL	1:1
0,6	1,2	400 mL	1:2
0,4	1,6	400 mL	1:4
1,2	0,6	400 mL	2:1
1,6	0,4	400 mL	4:1

Fonte: Próprio autor

O procedimento de preparação dos compósitos utilizados como testes preliminares para compreender a sua formação aconteceu da seguinte forma: seguindo as

proporções mencionadas acima, pesou-se 1g de HDLe 1g de PVP360, que foram misturados com 400 mL de água destilada. Após realizada a mistura dos materiais (HDL+ PVP360+ água destilada) em um béquer de 500 mL foi padronizado o tempo de agitação total por 1 hora nos três métodos de homogeneização. Após a etapa de homogeneização, as suspensões foram filtradas e secas à temperatura ambiente conforme o fluxograma da Figura 9.



Fonte: Próprio autor

FIGURA 9. Tipos de métodos de homogeneização para formação de compósitos.

4.3. SEGUNDA ETAPA: ELABORAÇÃO DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E APLICAÇÃO DOS COMPÓSITOS A CERVEJA ARTESANAL

Para a realização dos ensaios de produção dos compósitos, um planejamento experimental foi elaborado para avaliar a influência das massas dos componentes como variáveis de preparação sobre o parâmetro de clarificação (Turbidez) da cerveja: HDL (2,5 a 10 g); PVP 360 (1,25 a 5,0 g) e PVPP (1,25 a 5,0 g) em 1 L de água destilada sob agitação ultrassônica por uma 1 hora.

Com relação ao processo de produção dos compósitos, a fim de avaliar o efeito das variáveis sobre a clarificação da cerveja, foi adotado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) completo do tipo 2^3, com níveis (-1 e +1); pontos axiais (-1,68 e +1,68) e triplicata no ponto central (0). Para elaboração do planejamento foram

utilizadas como variáveis, para formulação dos compósitos, a quantidade em massa de HDL (Hidróxido Duplo Lamelar) na forma comercial, bem como quantidades de PVP 360 e do PVPP.

As quantidades correspondentes aos níveis avaliados inicialmente foram baseadas em trabalhos da literatura que utilizaram clarificantes a base de argila (SILVA et al., 2021; CIMINI e MORESI 2018; KAHLE et al., 2021)

Na Tabela 5 consta os níveis reais e codificados das variáveis independentes para formulação dos compósitos aplicados à cerveja.

TABELA 5. Fatores e níveis experimentais utilizados para avaliar o processo de clarificação de cerveja artesanal.

FATORES	**NÍVEIS EXPERIMENTAIS**				
	-1,68	**-1**	**0**	**1**	**1,68**
HDL (g/L)	2,50	4,01	6,25	8,49	10,00
PVP (g/L)	1,25	2,00	3,12	4,25	5,00
PVPP (g/L)	1,25	2,00	3,12	4,25	5,00

Fonte: Dados da pesquisa.

Na matriz do planejamento experimental (Tabela 6) são apresentadas as três variáveis codificadas e decodificadas investigadas.

TABELA 6. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal.

ENSAIOS	**HDL (g/L)**	**PVP 360 (g/L)**	**PVPP (g/L)**
1	4,01 (-1)	2,00 (-1)	2,00 (-1)
2	8,49 (+1)	2,00 (-1)	2,00 (-1)
3	4,01 (-1)	4,25 (+1)	2,00 (-1)
4	8,49 (+1)	4,25 (+1)	2,00 (-1)
5	4,01 (-1)	2,00 (-1)	4,25 (+1)
6	8,49 (+1)	2,00 (-1)	4,25 (+1)
7	4,01 (-1)	4,25 (+1)	4,25 (+1)
8	8,49 (+1)	4,25 (+1)	4,25 (+1)
9	2,50 (-1,68)	3,12 (0)	3,12 (0)
10	10,00 (+1,68)	3,12 (0)	3,12 (0)
11	6,25 (0)	1,25 (-1,68)	3,12 (0)
12	6,25 (0)	5,00 (+1,68)	3,12 (0)
13	6,25 (0)	3,12 (0)	1,25 (-1,68)
14	6,25 (0)	3,12 (0)	5,00 (+1,68)
15	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)
16	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)
17	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)

Fonte: Dados da pesquisa.

Estas variáveis foram escolhidas por serem as principais influenciadoras no

processo de formação do compósito utilizado para clarificação de bebidas. Os ensaios foram realizados através da aplicação de um DCCR e da metodologia de superfície de resposta visando avaliar o efeito da concentração das variáveis avaliadas sobre a clarificação da cerveja, sendo a turbidez a resposta coletada.

TABELA 7. Matriz da segunda série de planejamento experimental DCCR 2^3 para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal após otimização.

ENSAIOS	HDL (g/L)	PVP 360 (g/L)	PVPP (g/L)
1	9,62 (-1)	4,81,00 (-1)	2,00 (-1)
2	14,38 (+1)	4,81 (-1)	2,00 (-1)
3	9,62 (-1)	7,19 (+1)	2,00 (-1)
4	14,38 (+1)	7,19 (+1)	2,00 (-1)
5	9,62 (-1)	4,81 (-1)	4,25 (+1)
6	14,38 (+1)	4,81 (-1)	4,25 (+1)
7	9,62 (-1)	7,19 (+1)	4,25 (+1)
8	14,38 (+1)	7,19 (+1)	4,25 (+1)
9	8,00 (-1,68)	6,00 (0)	3,12 (0)
10	16,00 (+1,68)	6,00 (0)	3,12 (0)
11	12,00 (0)	4,00 (-1,68)	3,12 (0)
12	12,00 (0)	8,00 (+1,68)	3,12 (0)
13	12,00 (0)	6,00 (0)	1,25 (-1,68)
14	12,00 (0)	6,00 (0)	5,00 (+1,68)
15	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)
16	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)
17	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)

Fonte: Dados da pesquisa.

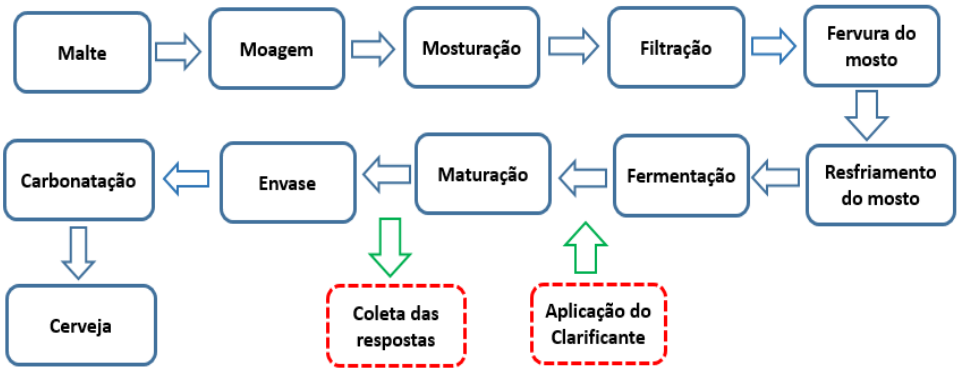
Como será discutido na seção de Resultados e Discussão, os resultados deste planejamento revelaram a possibilidade de otimização das formulações de compósitos para a aplicação desejada, apontando alterações nas composições apresentadas na Tabela 6 e gerando uma nova matriz de ensaios. A Tabela 7 traz estas novas formulações.

4.4. APLICAÇÃO DO COMPÓSITO NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

As cervejas para aplicação do clarificante foram obtidas de um produtor de cerveja artesanal tipo Pale Ale (APA) em Aracaju-Se, logo após a fermentação da mesma, no período de março de 2022 à novembro de 2022.

A aplicação dos compósitos foi realizada na etapa de maturação (Figura 9) que ocorreu durante sete dias sob temperatura de refrigeração, com a finalidade de verificar a influência dos compósitos no processo de clarificação da cerveja. Para isso foi adicionado

0,1g do compósito em 250 mL de cerveja (concentração de 0,4g/L) para cada ensaio avaliado, no total de 17 ensaios. Após a maturação, ocorreu a filtração dos clarificantes na forma de forma suspensos na cerveja em seguida, foram coletadas de todos os ensaios (50 mL) para avaliar a Turbidez em NTU (Unidade Nefelométrica de Turbidez), com uso do Turbidímetro (Modelo DLT-WV, Série n° 02192073).



Fonte: Próprio autor

FIGURA 10. Fluxograma de produção de cerveja em escala laboratorial para avaliação da clarificação.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos ensaios experimentais, segundo o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) proposto, foram processados por meio software Statistica® versão 8.0 (Stat Soft. Inc., Tulsa, EUA) para determinação dos efeitos das variáveis independentes, interação entre as variáveis, falta de ajuste e obtenção das curvas de superfície de resposta.

Tendo em vista a alta variabilidade das respostas, inerente a redução da turbidez, valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos pelo teste F. A ANOVA foi realizada para verificar a significância estatística do modelo gerado, demonstrado também o ajuste dos modelos aos dados experimentais.

As concentrações experimentais foram otimizadas levando em consideração os efeitos das variáveis concentrações das argilas utilizadas na formulação do clarificante e observando da tendência de redução da turbidez observada nas curvas de superfície de respostas geradas com os dados colhidos na primeira etapa do experimento. Após a definição das concentrações otimizadas, as variáveis: HDL, PVP 360 e PVPP foram aplicadas em um novo planejamento (DCCR) com pontos centrais e axiais.

4.6. MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS

O método de caracterização, difração de raios X, foi aplicado nos testes preliminares dos compósitos utilizados nos três métodos de homogeneização com o intuito de verificar qual o tipo de compósito formado no presente trabalho.

Após as aplicações dos compósitos a cerveja e depois de ter feito a leitura no turbidímetro para avaliar a turbidez, foram selecionados os resultados que obtiveram os menores valores. Assim foram escolhidos seis ensaios para a realização da caracterização dos compósitos.

Para caracterizar os compósitos formados e determinar suas propriedades, foram necessárias várias técnicas de análises, tais como:

- Difração de raios X no pó (DRXP) para análise estrutural dos compósitos;
- Espectroscopia de absorção na região infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), para uma avaliação de estrutura química;
- Análise termogravimétrica (ATG) acoplada a análise térmica diferencial (ATD), para avaliações de propriedades térmicas de cargas voláteis presentes nas amostras;
- Microscopia eletrônica de varredura (MEV), visando avaliar a morfologia superficial dos compósitos.

4.6.1. Difratomeria de Raios X (DRX)

As medidas de difratometria de raios-x foram realizadas nos testes preliminares e nos compósitos selecionados que obtiveram menores valores de turbidez. Foram depositadas aproximadamente 3g dos compósitos previamente compactadas na forma de pó finamente disperso, preenchendo completamente a cavidade do porta-amostras de alumínio.

As análises foram realizadas em um difratômetro de raios-x de marca Shimadzu LabX, modelo XDR-600, operação a 20-60Kv do CLMDCEM – Centro Laboratorial Departamento de Ciências e Engenharia dos Materiais, Laboratório de técnicas de Raios X- UFS, com as seguintes condições de análises:

- Faixa de 2θ: 5° a 60°;
- Passo: 0,02°;
- Tempo por passo: 5s/passo;
- Corrente: 30mA;
- Voltagem: 30kV;

- Amostragem: em pó

As curvas de raios-x obtidas foram colocadas em forma gráfica pelo próprio software do equipamento.

4.6.2. Espectroscopia de Absorção na Região Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As espectroscopia de absorção na região infravermelho com transformada de fourier, foram realizadas nos compósitos selecionados que obtiveram menores valores de turbidez. Foram confeccionadas as pastilhas de KBr, prensadas a partir de uma mistura de 2% das amostras (nanocompósitos) em KBr previamente seco e em seguida foi realizada a leitura.

Análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foram realizadas nos compósitos através de um espectrômetro de infravermelho do fabricante: Shimadzu, modelo IRPrestige -21 do Centro de Laboratórios de Química Multiusuários II (CLQM)- UFS, Departamento de química, com as seguintes condições de análise:

- Janela dos espectros: 400-4000 cm^{-1};
- Tipos de amostragem: pastilhas;
- Número de leituras: 32

Os dados dos espectros obtidos foram exportados na forma de tabelas e colocados na forma de gráficos pelo software OriginPro 8.1.

4.6.3. Análise Termogravimétrica (ATG)

Análises termogravimétricas foram realizadas nos compósitos com menores valores de turbidez através um analisador termogravimétrico da marca Shimadzu TGA-50, modelo SDT 2969, do Centro de Laboratórios de Química Multiusuários II (CLQM)-UFS, com as seguintes condições de análise:

- Faixa de temperatura: 25°C à 850°C
- Taxa de aquecimento: 1°C min^{-1}
- Fluxo de ar sintético (80% N_2 e 20% O_2) de 100cm^3 min^{-1};
- Cadinho de alumina;
- Massas das amostras: cerca de 10 mg.

Os termogramas foram plotados em gráficos pelo software OriginPro 8.1.

4.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Como descrito nas caracterizações acima, os compósitos foram selecionados para análises de MEV. As amostras foram preparadas da seguinte maneira: diluiu-se 0,05g da amostra do nanocompósito em 4mL de álcool isopropílico que foram conduzidas ao equipamento de ultrassom por 15 minutos. Em seguida as amostras diluídas foram gotejadas em stubs com fita de carbono e secas na capela para serem revestidas com uma fina camada de prata no metalizador conforme descrito abaixo.

As microscopias eletrônicas de varredura foram realizadas nos compósitos selecionados através de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) de marca JEOL, modelo jsm-5700, CLMDCEM – Centro Laboratorial Departamento de Ciências e Engenharia dos Materiais- UFS, com as seguintes condições de análise:

- Voltagem: 10 a 20kV;
- Aumentos: 1000 a 10000 vezes

As amostras analisadas receberam um recobrimento metálico em um metalizador SputterCoater de marca CRESSINGTON do fabricante: Kurt j. Lesker, modelo 108 que deposita sobre as amostras uma camada de prata a uma pressão de 30mA/mbar por 200 segundos.

As imagens obtidas foram geradas pelo próprio equipamento.

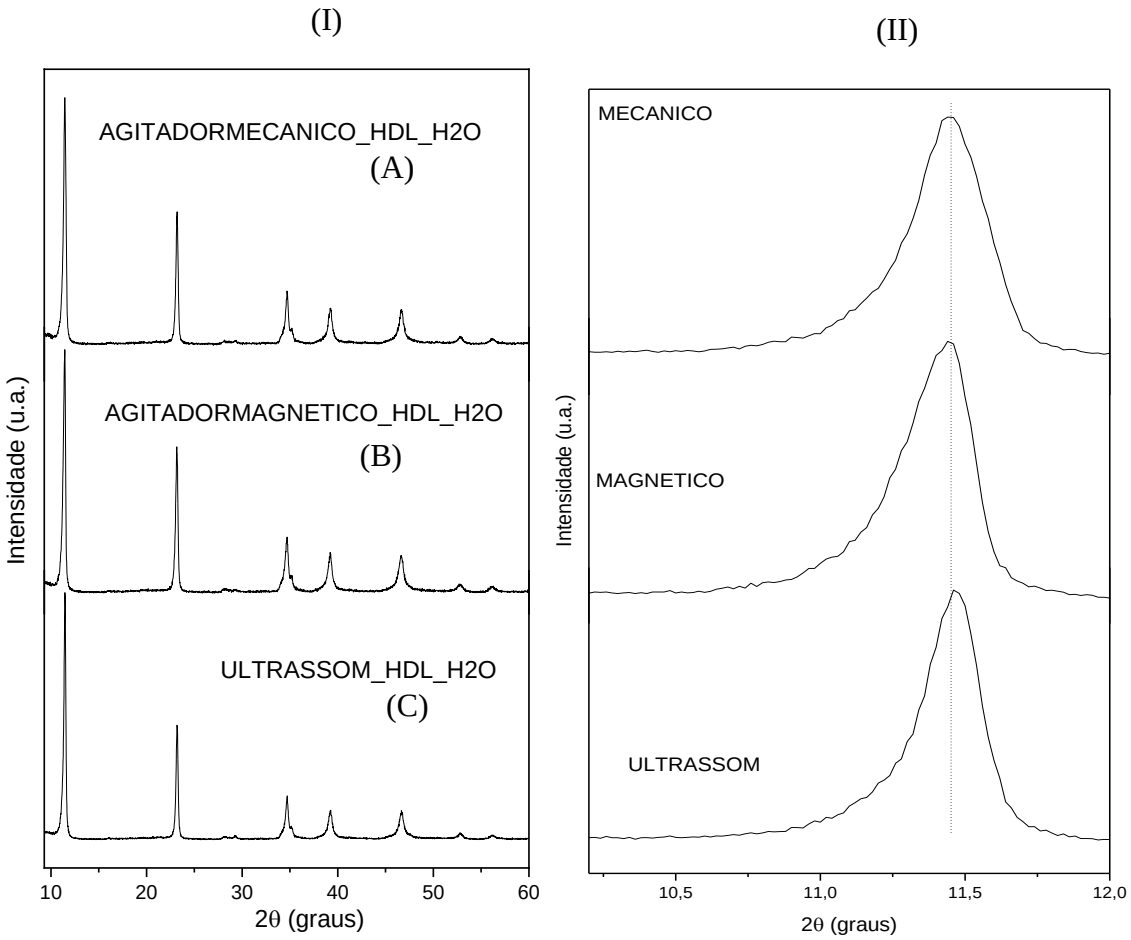
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão mostrados e discutidos os resultados experimentais obtidos neste trabalho. A sequência dos tópicos a seguir corresponde aos resultados desde a preparação dos compósitos à aplicação na cerveja artesanal e caracterização dos mesmos. Sendo assim, o primeiro tópico traz uma avaliação do efeito da agitação do HDL em água, empregando diferentes tipos de agitadores, a fim de avaliar se há ocorrência de interações que podem causar alterações na estrutura cristalina do HDL. Na sequência, estão apresentados os resultados das análises de caracterização da produção dos compósitos como testes preliminares do efeito de diferentes proporções HDL:polímeros, nas seguintes proporções: 1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1 em suspensão, assistida por métodos de homogeneização utilizando o banho ultrassom, agitador mecânico e agitador magnético.

Após a identificação do método de homogeneização mais adequado foram produzidos os compósitos utilizando o DCCR e a metodologia de superfície de respostas avaliando as condições de clarificação da cerveja. A fim de determinar a condição ótima do compósito, após o planejamento DCCR inicial, novas concentrações foram otimizadas e aplicadas à cerveja. Os compósitos que apresentaram os melhores resultados em relação a redução da turbidez, foram caracterizados pelas seguintes técnicas: Difratometria de raios X (DRX); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); Análise termogravimétrica (TGA); Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

5.1. ESTUDO PRÉVIO DAS CONDIÇÕES DE PREPARAÇÃO DOS COMPÓSITOS

Para a formação dos compósitos, o HDL precisa ser agitado em suspensão aquosa na presença dos polímeros. A fim de avaliar se a mera agitação em água seria capaz de promover alterações estruturais no HDL, realizaram-se testes neste sentido na ausência dos polímeros, comparando-se três tipos de agitadores: agitador mecânico; magnético e ultrassom como apresentado na Figura 10.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 11. Difração de raios-x das amostras preparadas com método de homogeneização HDL + H_2O: agitação mecânica (A), agitação magnética (B) e ultrassom (C).

Os padrões de raios X exibidos na Figura 11, foram utilizados para caracterizar a estrutura dos HDL dispersos em água com homogeneizadores diferentes.

Os padrões de DRX dos HDLs dispersos em água sob tipos de agitadores diferentes, na Figura 11 (II), mostraram que não houve diferença em relação à intensidade e alargamento dos picos para os três homogeneizadores. Adicionalmente, é possível afirmar que os padrões de raios X com diferentes tipos de dispersões apresentam fundamentalmente os mesmos padrões de cristalinidade do HDL, sendo possível identificar os mesmos planos cristalinos compatíveis com a literatura no trabalho de Carmo et al., 2014.

Como já mencionado, os picos de difração para as amostras de HDL em água para todos os tipos de agitadores estudados, não indicaram a ocorrência de alterações estruturais no HDL, uma vez que os picos de difração na faixa de 10 a 60° se mantiveram

inalterados. A Figura 11 (II) permite uma melhor visualização por apresentar a ampliação da região em torno do pico basal e também por ser considerado um pico mais sensível a principais alterações, além de confirmar a similaridade entre os três homogeneizadores preservando as características do HDL tais como estrutura lamelar cristalina e picos bem definidos.

Assim, o estudo prévio utilizando o HDL + água com diferentes tipos de homogeneizadores trouxe esclarecimentos sobre o comportamento do HDL na presença de água. Foi possível observar que os padrões do HDL apresentados nas figura 11(I) e 11(II) são característicos do sistema cristalino hexagonal, tipificando estrutura de hidrotalcita com simetria romboédrica 3R (CUNHA et., 2010; MAHJOUBI et al., 2015). Além de apresentar picos bem definidos, com boa cristalinidade e organização em relação ao empilhamento das camadas como podem ser observados na Figura 11.

A Figura 12 mostra os difratogramas obtidos no estudo prévio das condições de preparação dos compósitos formados por HDL e PVP360 nas concentrações mencionadas anteriormente, bem como o HDL seco (ou seja, sem agitação prévia em água) como comparativo.

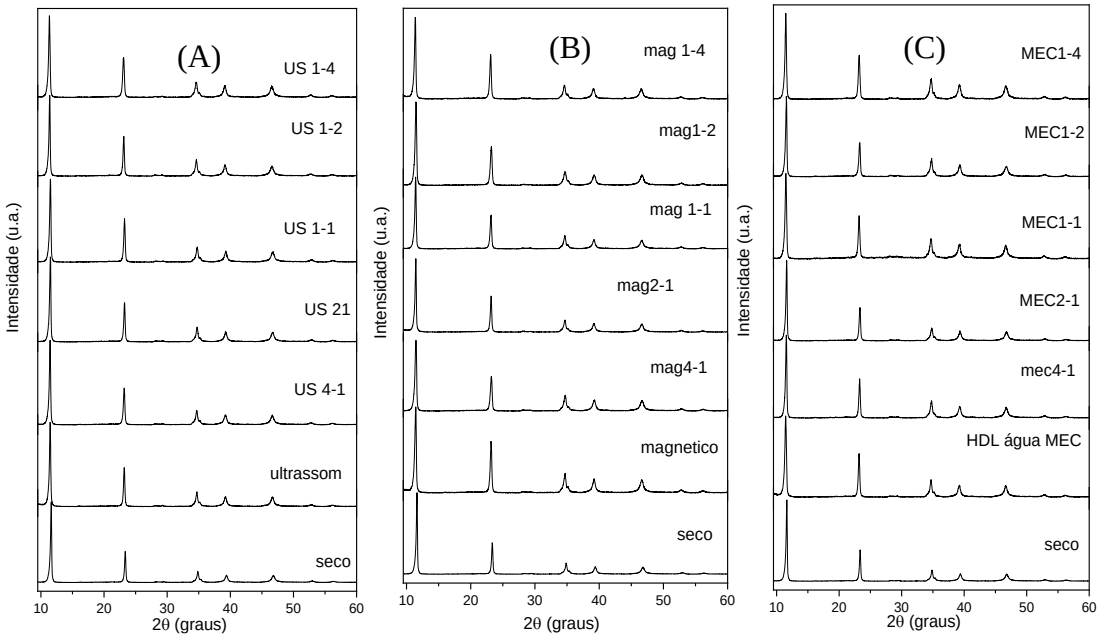
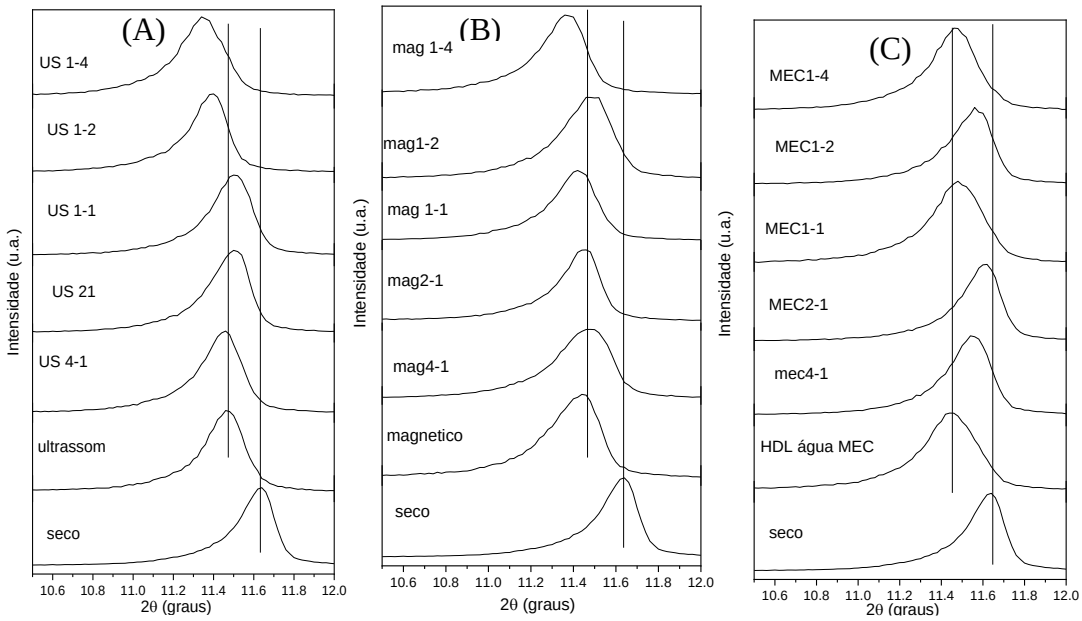


FIGURA 12.1. Difração de raios-x dos compósitos preparados com método de homogeneização: ultrassom (A), agitação magnética (B) e agitação mecânica (C).



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 12.2. Ampliações do pico basal dos Difração de raios-x dos compósitos preparados com método de homogeneização: ultrassom (A), agitação magnética (B) e agitação mecânica (C).

A Figura 12 apresenta o efeito da presença do polímero PVP360 e das proporções entre eles e o HDL nos diferentes tipos de homogeneizadores. A escolha do PVP360 para esta avaliação se deveu à sua solubilidade em água e, portanto, possibilidades mais efetivas de interações como intercalação entre as lamelas ou esfoliação do HDL. Ou seja, para verificar se a arquitetura dos compósitos formados poderia ser de nanocompósito ou de microcompósito. Quanto ao PVPP, por ser insolúvel em água, a possibilidade de formação de nanocompósitos pelas metodologias escolhidas neste trabalho foi descartada.

Observa-se na Figura 12 que todos os difratogramas apresentam os mesmos picos atribuídos ao HDL como previsto, considerando a estrutura do polímero e as possibilidades de interações. É possível observar também que não há interferências de halos na linha de base, pois como já citado o PVP360 é a solúvel em água e é provável que se apresente como uma camada adsorvida na superfície das partículas do HDL, tendo eventuais excessos removidos na filtração. A Figura 12.1 permite visualizar as ampliações da região em torno do pico basal, observando- se que as posições dos picos basais variam de modo sutil quando comparado aos diferentes tipos de homogeneizadores para os compósitos bem como com o HDL na presença de água.

Conforme mostrado na Figura 12, observa-se que com a presença do polímero PVP360 não aparecem picos adicionais nas posições 10 a 20°, ao mesmo tempo em que

promove um deslocamento do pico em torno de 11° para valores menores de 2θ. Para os três tipos de homogeneizadores, nota-se que a proporção de polímeros tem influência sobre o deslocamento do pico, uma vez que quanto maior a quantidade relativa de PVP360 os deslocamentos apresentaram uma tendência a se tornarem mais pronunciados. Em geral, deslocamentos dos picos são indicativos de uma possível interação entre o HDL e o PVP360. Sabe-se que, a depender da magnitude deste deslocamento, este pode ser interpretado como resultado de intercalação das cadeias poliméricas (no caso de deslocamentos maiores do que 1-2°) ou como resultado de outros processos tais como a troca do ânion interlamelar, mudanças na quantidade de moléculas de água interlamelar ou enfraquecimento das forças de atração entre as lamelas. No presente caso, como os deslocamentos foram de pequena magnitude, não sendo consistentes com a ocorrência de intercalação. Por outro lado, também não é provável que tenha ocorrido a troca do ânion carbonato por outro tipo, pois para que isso ocorra é necessário agitar o material em soluções contendo outros ânions, como foi descrito por Costa et. al., 2008.

Por fim, os efeitos da quantidade de água interlamelar sobre a distância interplanar, como descrito por Neto et al., 2021, sugerem que essa possa ser a situação encontrada no presente trabalho. Por fim, como será discutido na análise termogravimétrica, os compósitos apresentam teores mais elevados de água do que o HDL. Vale destacar que na ausência dos polímeros, Figura 12, ou seja, quando o HDL foi sujeito a homogeneização somente em água, não se observou nenhum deslocamento, indicando que de fato as interações com os polímeros promovem enfraquecimento das atrações entre as lamelas.

Apesar da alta similaridade do estudo prévio para a preparação dos compósitos realizado com os diferentes tipos de homogeneizadores, uma avaliação dos efeitos sobre a posição do pico basal revela diferenças sutis entre o ultrassom e o agitador mecânico. Especificamente, ambos promoveram deslocamentos para valores de 2θ menores quando comparados com a agitação em água, o que pode ser considerado um ligeiro aumento na hidratação. A homogeneização com agitador mecânico na presença de PVP360 pode ser interpretada seguindo duas vertentes ou não causa deslocamento em relação a agitação em água ou promove ligeiros deslocamentos para 2θ maiores, o que sugere diminuição de hidratação.

Considerando-se que os diferentes homogeneizadores não levaram a diferenças marcantes entre si, bem como o fato de que o ultrassom é o mais empregado na literatura, o ultrassom foi o método escolhido para a preparação das formulações a serem aplicadas

para a clarificação de cerveja. A razão do uso disseminado do ultrassom se deve às vantagens apresentadas em relação à mistura convencional, tais como a rapidez, maiores rendimentos e a possibilidade de fabricar novos compostos, substâncias ou materiais impossíveis ou difíceis de obter com as metodologias convencionais.

5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS APLICADOS A CERVEJA

Foram selecionados os compósitos contendo HDL, PVP360 e PVPP (dentre aqueles identificados na Tabela 6) que levaram aos resultados mais satisfatórios quanto a redução da turbidez da cerveja para apresentar os dados de caracterização por difratometria de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e microscopia eletrônica de varredura.

A Tabela 8 apresenta os melhores ensaios junto com suas concentrações isoladas para a formação compósitos caracterizados por difração de raios X na figura 13.

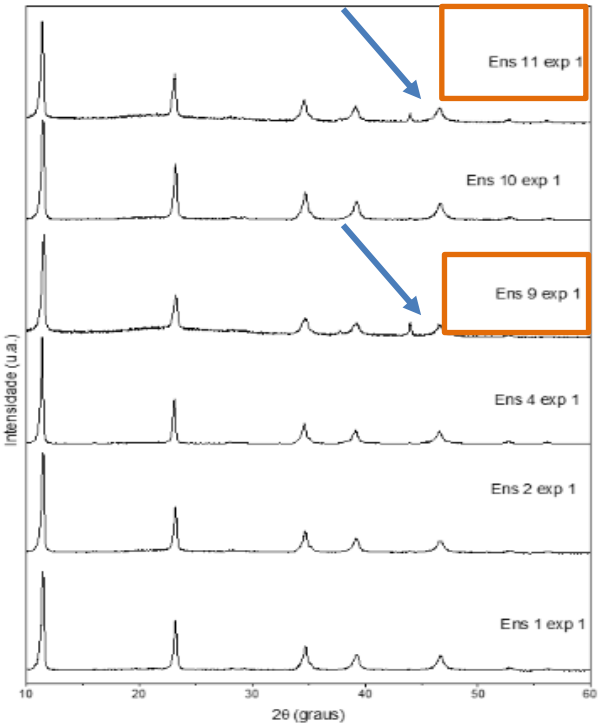
TABELA 8. Concentrações dos compósitos com menores valores de turbidez

Ensaios	**Concentração de HDL (g/L)**	**Concentração de PVP 360 (g/L)**	**Concentração de PVPP (g/L)**
1	4,01	2	2
2	8,49	2	2
4	8,49	4,25	2
9	2,50	3,12	3,12
10	10	3,12	3,12
11	6,25	1,25	3,12

Fonte: Dados da Pesquisa

A Figura 13 apresenta os resultados da caracterização por difração de raios X dos compósitos que obtiveram menores valores de turbidez aplicados a cerveja artesanal.

Os padrões de DRX obtidos para os compósitos exibem características mais direcionadas aos materiais do tipo hidrotalcita, uma vez que os polímeros utilizados são não cristalinos. De modo geral, os padrões de raios X são semelhantes entre si quanto aos picos presentes, exceto para os ensaios em destaque: 9 e 11 (Figura 13), para os quais um halo sutil se manifesta com uma ligeira elevação da linha de base afetando a estrutura cristalina da argila dispersa. Nestes casos, a proporção relativa de polímeros em relação ao HDL é mais elevada, refletindo na observação deste halo subjacente à linha de base. Adicionalmente, para essas mesmas amostras, e de modo mais sutil para 4 e 10, é possível observar um pico de baixa em $2\theta = 44°$, atribuído ao porta-amostras de alumínio.



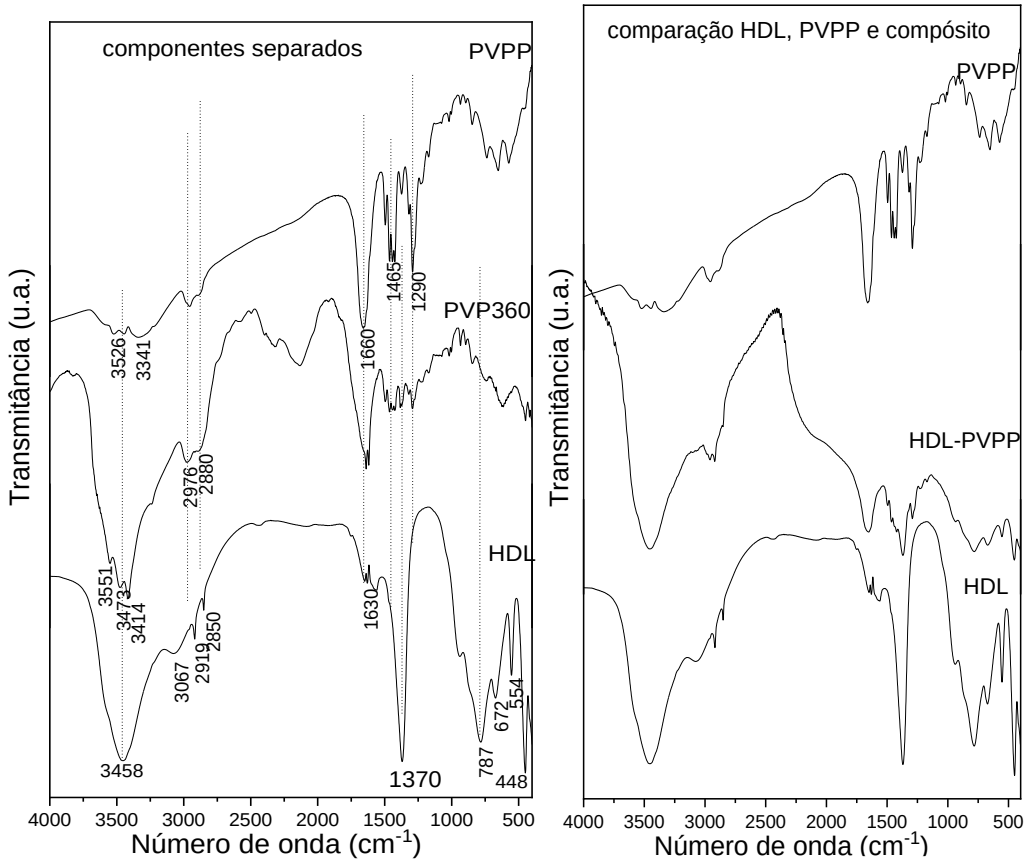
Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 13. Difração de raios X dos compósitos

O comportamento do pico basal mostrou o mesmo comportamento em termos de deslocamentos sutis para valores menores de 2θ em comparação com o HDL original, denominado de "seco", associado ao aumento do teor de água na região interlamelar.

5.2.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Antes de apresentar os espectros das amostras referentes aos ensaios do planejamento DCCR, serão discutidos os espectros dos componentes separados (HDL, PVP360 e PVPP), bem como o espectro de um dos compósitos, do ensaio 9, escolhido como representativo dada a semelhança entre os espectros dos compósitos). Na Figura 14 (A) são mostrados os espectros dos componentes separados e, na Figura 14 (B), pode-se observar para melhor comparação, os espectros do HDL, do PVPP e do compósito representativo. Vale destacar que as absorções do PVP360 não foram detectadas nos compósitos pois, devido a sua solubilidade, a maior parte deste permaneceu em solução e foi removida na filtração, o que não é inesperado pois a principal função de sua adição foi como auxiliar de dispersão do HDL. Por fim, a Tabela 9 traz as atribuições detalhadas das bandas.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 14. Espectros do HDL, PVPP e do compósitos 9 C1 na região do infravermelho.

Para o HDL, nota-se que a banda larga em 3400 e 3000 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de ligações O-H de grupos hidroxila e moléculas de água. A banda localizada na região entre 1480 e 1350 cm^{-1} é atribuída aos diferentes modos vibracionais dos ânions CO_3^{2-}. A banda em 1640 cm^{-1} é devida principalmente à deformação angular de moléculas de água interlamelar e também fisicamente adsorvidas (ZHANG et al., 2013; LI et al., 2016; LI et al., 2018). A mesma atribuição é proposta por Abdellaoui et al. (2017) para a região em torno de 1630 cm^{-1} no espectro dos HDLs. As bandas relacionadas ao estiramento M-O, ou seja, Mg–O e Al-O aparecem em 794 cm^{-1} e a região em torno de 600 cm^{-1} são assinaladas como o estiramento Al/Mg-OH da lamela do HDL estando de acordo com os dados experimentais relatados na literatura (BENÍCIO, 2017). É possível verificar a presença de uma banda de baixa intensidade na região 672 cm^{-1}, o que de acordo com a literatura, é atribuída às vibrações dos metais divalentes e trivalentes com o oxigênio das ligações O-M-O, M-OM e M-OH (KHITOUS; SALEM; HALLICHE, 2016). Para os polímeros, as bandas entre 2800 e 2970 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos C-H, as bandas próximas a 1290 e 1460 cm^{-1} são oriundas de deformações

C-N e CH_2 respectivamente e a banda em 1660 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C=O.

Os espectros FTIR apresentam que a amostra obtida pela agitação de HDL e PVPP na presença de PVP360 são praticamente uma soma das bandas de HDL e PVPP separados, cujas atribuições estão na Tabela 9. Observa-se que, no espectro do compósito, aparece um conjunto de bandas não resolvidas na região 1200-1500 cm^{-1}, porém nas mesmas posições em que estão presentes nos espectros dos componentes separados. Nota-se a existência de uma diferença sutil de um ombro em 1325 cm^{-1}, que pode sugerir a presença de outra forma de carbonato, podendo também corresponder a uma absorção do polímero. Além deste ombro, há uma diminuição da intensidade relativa (frente às bandas em 1290 e 1465 cm^{-1}), além de um alargamento e assimetria da banda da carbonila em 1660 cm^{-1}, característica do PVPP, sugerindo que esta possa estar participando de ligações de hidrogênio em interações com o HDL.

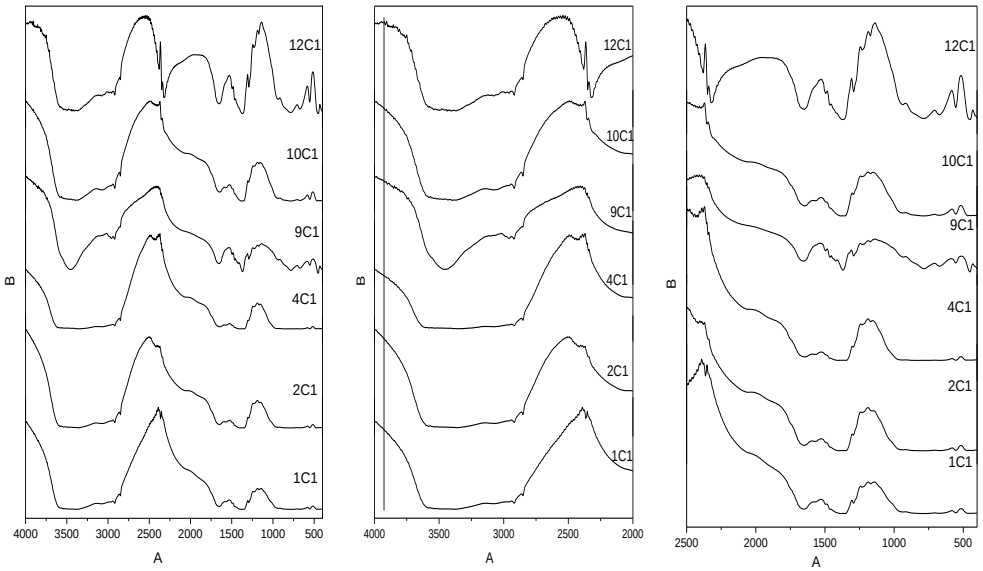
TABELA 9. Números de onda (cm^{-1}) e atribuições das bandas observadas nos espectros infravermelhos dos materiais de partida HDL e polímeros.

HDL	**PVP**	**PVPP**	**Atribuição**
3460			ν(O-H)
			ν(O-H)
3069			ν(O-H---carbonato))
2919, 2850			ν(O-H---carbonato))
	2955	2955	ν(C-H)
	2890	2890	ν(C-H)
	1660	1660	ν(C=O)
1630			δ(H-O-H)
	1465		δ(CH2)
1368			ν(C-O de CO_3^{2-})
	1290	1290	ν(C-N)
787			
672			ν(M-O) e
554			ν(O-M-O)
448			

Fonte: Dados da pesquisa

A Figura 15 apresenta a análise de FTIR dos compósitos que obtiveram melhores

respostas quando aplicados no processo de clarificação. Os espectros trazem as mesmas características discutidas anteriormente, ou seja, bandas referentes aos componentes HDL, PVP360 e PVPP, sendo este último o polímero que se manifesta de forma mais evidente.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 15. Espectros na região do infravermelho.

Para as amostras contendo polímeros, além das bandas acima de 3000 cm^{-1}, observam-se bandas próximas a 2847 cm^{-1} que é atribuída a estiramentos de ligações CH dos polímeros e a banda na região de 1660 cm^{-1} é atribuída aos estiramentos C=O dos polímeros como resumido na Tabela 9, bem como aos modos de deformação H-O-H da água do HDL. As bandas em 1465 cm^{-1} são atribuídas a deformação CH_2 dos polímeros, em 1370 cm^{-1} ao estiramento do ânion carbonato e em 1290 cm^{-1} correspondem ao estiramento CN dos polímeros.

5.2.2. Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas referentes à análise termogravimétrica, bem como as DTGs para os 6 compósitos: 1; 2; 4; 6; 10 e 11 e também para o HDL e o PVPP estão expostas na Figura 16.

A curva de análise termogravimétrica do HDL apresenta três etapas de perdas de massas. A primeira ocorre entre 50 e ~100 °C, pela perda de moléculas de H_2O adsorvidas na superfície dos cristalitos. A segunda etapa vai de 100 até ~250 °C, dá-se a eliminação de moléculas de H_2O de hidratação presentes originalmente entre as lamelas do HDL. Na

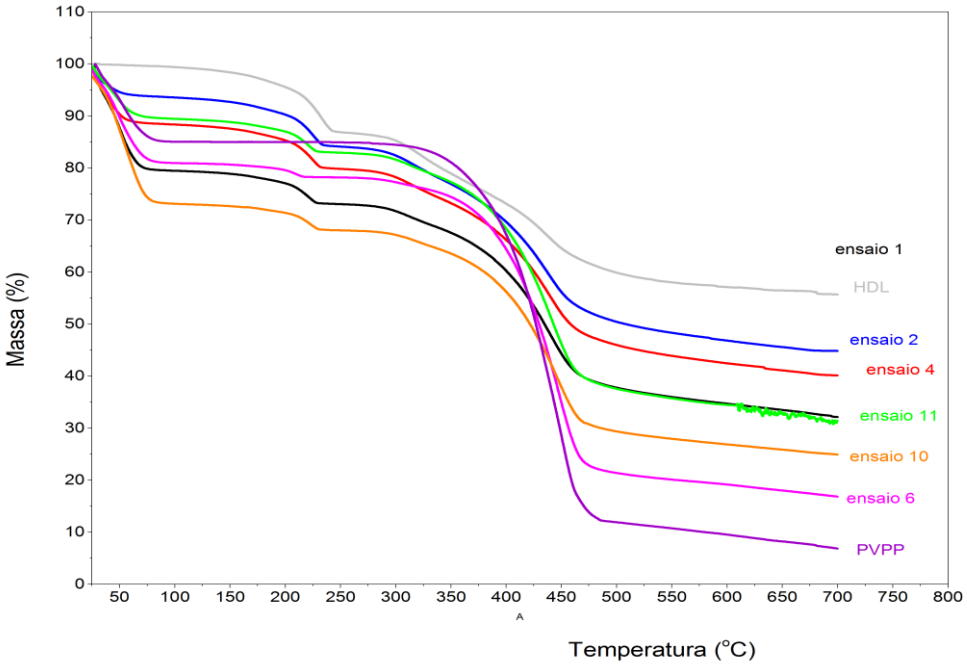
terceira etapa, ocorre a desidroxilação e descarbonização. Acima de 450 °C ocorre também uma pequena perda de massa que provavelmente está relacionada à remoção dos carbonatos que estão fortemente ligados (PÉREZ-RAMÍREZ et al., 2001) (ABDERRAZEK; SRASRA; SRASRA, 2017) (SEFTEL et al., 2018). Observa-se que o comportamento térmico por TG do HDL puro foi o que teve menos perda de massa quando comparados aos compósitos expostos na Figura 16.

Para o polímero PVPP, as curvas mostram dois eventos de perda de massa. O primeiro evento de perda de massa ocorre em temperatura 100 °C e está relacionado à perda de moléculas de água. O segundo evento de perda de massa ocorre entre 435- 500 °C, está relacionado à degradação térmica das cadeias poliméricas. Nota-se na figura 16 que o polímero puro, PVPP, começou a se degradar, ou seja, a perda massa, a uma temperatura em torno de 325°C e partir deste ponto, as cadeias poliméricas do PVPP são degradadas até valores de temperatura em torno de 475°C, temperatura na qual quase a totalidade deste material foi consumido. Em comparação com o HDL puro, o PVPP apresenta a menor porcentagem em massa de resíduo final, enquanto que o HDL puro apresenta a maior porcentagem de resíduo.

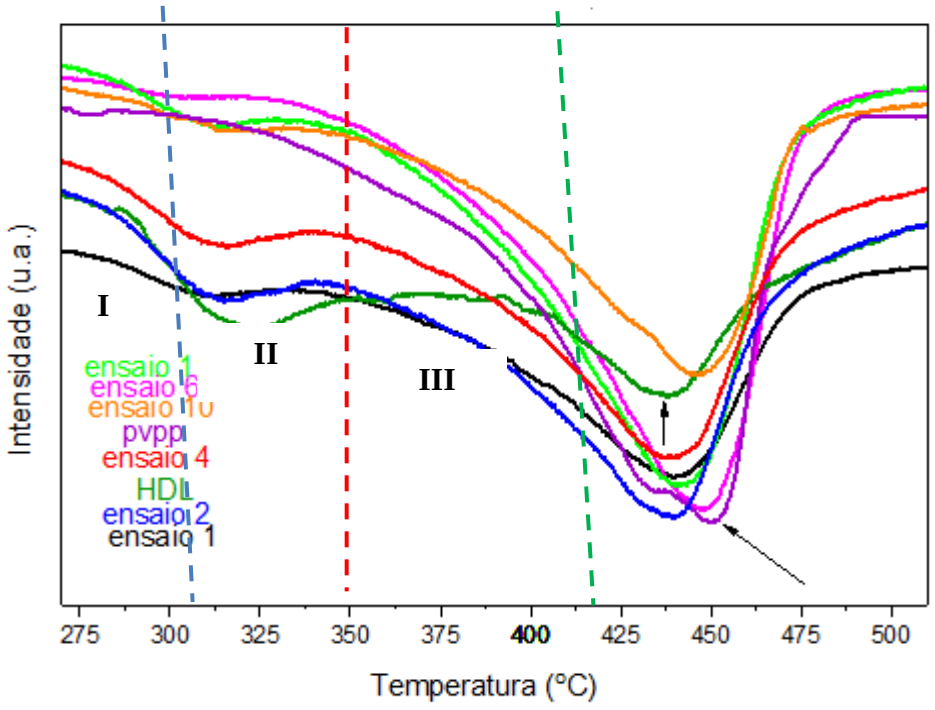
As porcentagens em massa dos resíduos finais nas curvas de TGA de todos os compósitos, como podem ser observadas, seguem comportamentos distintos em termos de acompanhar o padrão do HDL ou do PVPP. Nesse sentido, os compósitos:1; 2; 4 e 11 apresentam características voltadas para o padrão de HDL em que começam a degradar a uma temperatura próxima a 250 °C e a partir deste ponto, os compósitos são degradados até valores de em torno de 500 °C, temperatura na qual quase a totalidade destes materiais foram consumidos. Já os compósitos: 6 e 10 seguem o mesmo padrão do PVPP, em que esses componentes começam a degradar a uma temperatura ~ 300 °C até 500 °C.

Ao comparar a análise termogravimétrica das dispersões frente ao HDL e ao PVPP isolados, notou-se que os eventos de perda de massa ocorreram nas mesmas faixas de temperatura dos componentes isolados. No entanto, os resíduos finais se mostraram dependentes da presença de ambos os componentes, na medida em que o HDL apresenta um valor mais elevado de massa relativo ao resíduo final e o PVPP perde em torno de 90% de sua massa inicial. As massas residuais dos compósitos apresentaram valores intermediários em relação aos materiais de partida isolados, relevando o impacto da presença de ambos os componentes. notou-se uma acentuada perda de massa no segundo estágio em temperaturas 250 a 400 °C que pode ser atribuída à presença e a formação dos compósitos.

(A)



(B)



Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA 16. Curvas TG (A) e DTG (B) dos compósitos

A Tabela 10 traz uma comparação das porcentagens de massa perdidas nos

diferentes eventos, para as amostras estudadas.

TABELA 10. % de massa presentes nas curvas em intervalos de temperatura entre eventos de decomposição, bem como diferenças entre tais porcentagens

Amostra	% em massa			Diferenças de % em massa entre os intervalos em destaque		
	140 °C	250 °C	600 °C	*Evento 1	*Evento 2	*Eventos 3 e 4
HDL	99,3	86,8	57	0,7	12,5	29,8
PVPP	85	85	9,5	15	0	75,5
Ensaio 1	79,4	73	34,5	20,6	6,4	38,5
Ensaio 2	93,5	84	46	6,5	9,5	38
Ensaio 4	88,3	79,8	42,2	11,7	8,5	37,6
Ensaio 6	81	78,2	19,2	19	2,8	59
Ensaio 10	73,1	68	26,8	26,9	5,1	41,2
Ensaio 11	89,5	83	34,5	10,5	6,5	48,5

*Evento 1: liberação de água adsorvida fracamente; *Evento 2: liberação de água interlamelar; *Eventos 3 e 4: desidroxilação e descarbonatação (para HDL); degradação das cadeias poliméricas para PVPP

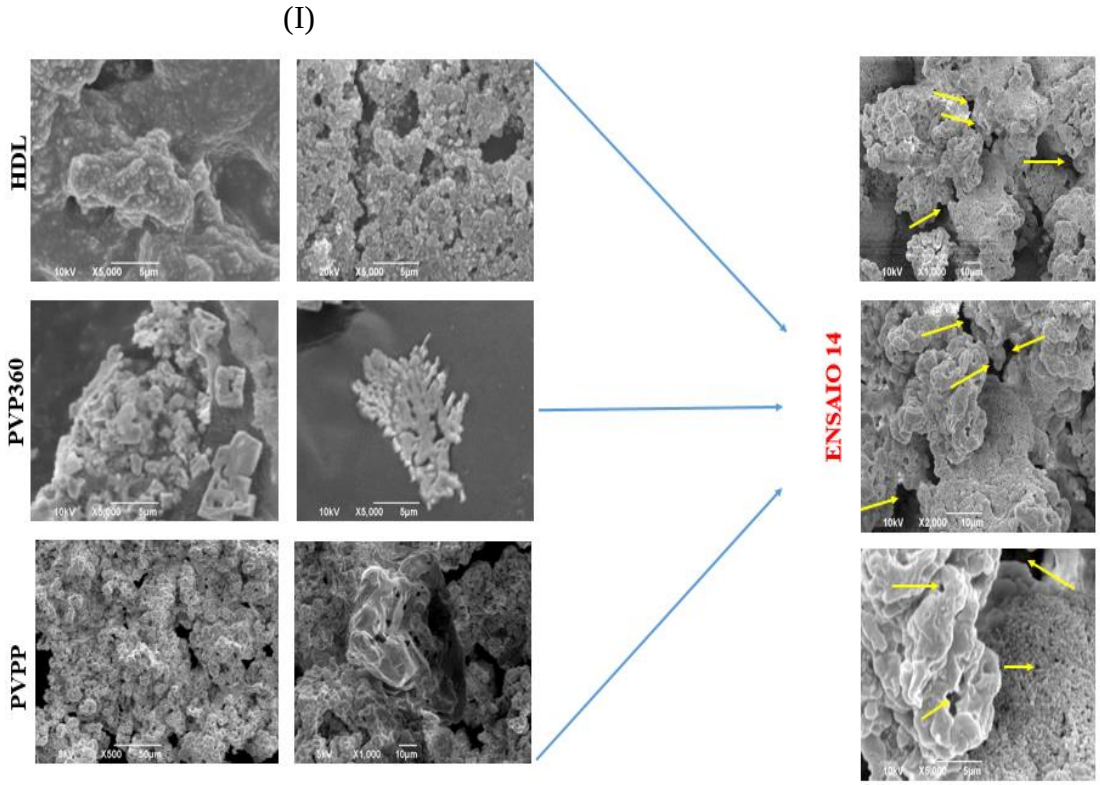
Fonte: Dados da pesquisa

Assim, por meio dos resultados obtidos na tabela 10, é possível observar que o HDL puro foi a amostra que menos continha água adsorvida fracamente, enquanto a amostra 10 continha a maior porcentagem. O polímero PVPP também se mostrou higroscópico, perdendo 15%, o que sugere que o uso deste polímero para a formação dos compósitos fez com que estes adsorvessem água na superfície. O PVPP não apresentou o segundo evento de perda de massas, associado à liberação de água interlamelar, o que foi observado tanto para o HDL quanto para os compósitos. As perdas de massa associada aos eventos finais incluem tanto desidroxilação e descarbonatação do HDL quanto a decomposição das cadeias poliméricas. Isto permite explicar porque o HDL teve a menor porcentagem (29,8%) e o PVPP a maior porcentagem (75%) enquanto os compósitos apresentaram valores intermediários.

5.2.3. Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 17 possibilita a visualização das imagens de MEV para os componentes dos compósitos bem como, a estrutura do compósito que obteve a melhor resposta na

aplicação como clarificante.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 17. Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o HDL; PVP360; PVPP e Ensaio 14

A fim de confirmar a interação entre os componentes do compósito e a formação do mesmo, as amostras estão apresentadas na Figura 17(I). As imagens MEV mostram que a morfologia do HDL apresenta menor uniformidade e superfície porosa. Na literatura, a morfologia do HDL tende a se apresentar na forma de placas hexagonais, porém a depender do método de preparação, a morfologia pode se mostrar com maior nível de irregularidade, como é o caso do HDL utilizado neste trabalho. Observa-se que na matriz do PVP360, as partículas têm diferentes tamanhos e formatos. O PVPP, por sua vez, apresenta de forma desordenada, resultando em várias partículas de diferentes tamanhos.

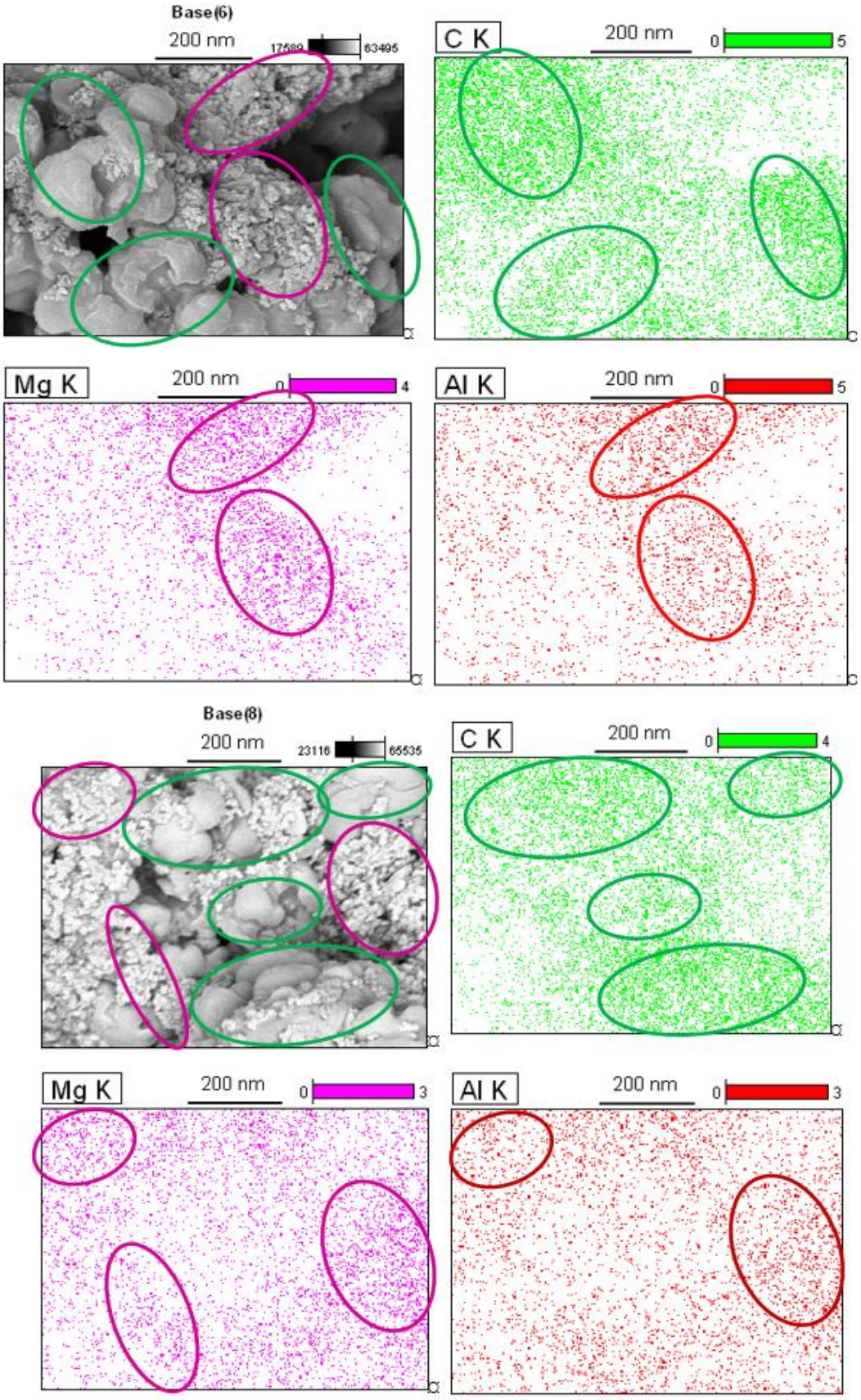
As morfologias do compósito (ensaio 14), analisadas por MEV estão expostas na Figura 17(II). Pode-se considerar possíveis interações entre os componentes dos compósitos obtidos devido a ocorrência de mudanças em relação à forma e tamanho das partículas. Ou seja, as morfologias dos compósitos são heterogêneas na medida em que existem regiões em que as partículas do HDL desagregaram e se dispersaram de modo isolado sobre as partículas de polímero, indicando adesão interfacial. Por outro lado, em

outras regiões, os componentes se mostram segregados, com agregados de HDL aderidos sobre a superfície das partículas dos polímeros: PVP360 e PVPP.

Na Figura 17 (II) nota-se a formação de micro-cavitações destacadas em amarelo, provavelmente essa formação se deve a alguns aglomerados do HDL e das polinvinilpirrolidonas que possivelmente não interagiram. Esse efeito de micro-cavitação pode ser interpretado por duas vertentes sendo uma delas, o uso do homogeneizador, uma vez que Higuera-Barraza et al., 2016, descreve que o efeito do ultrassom pode influenciar os componentes da matriz polimérica e alterar suas interações com o meio. Sob outro ponto de vista, o surgimento da micro-cavitação pode ter acontecido devido a modificação mais expressiva na morfologia do compósito que se assemelha à morfologia observada na Figura 17 (I). Essa Figura(17 I), apresenta os compósitos separados em que são constatadas alterações quando utlizado o ultrassom como homogeneizador, afetando a interação entre os compósitos em estudo. Comportamento semelhante sobre esse efeito observado de micro-cavitação foi encontrado no trabalho de Montagana et at., 2011.

As amostras resultantes de alguns ensaios foram selecionadas como representativas dos compósitos, devido à semelhança morfológica entre todos, a fim de não tornar o texto repetitivo, apesar de todas as amostras terem sido caracterizadas. Imagens adicionais foram incluídas como apêndice. A Figura 18 mostra imagens de mapeamento dos elementos carbono, magnésio e alumínio, obtidas por EDS para uma amostra representativa, obtida com magnificação de 5000 vezes.

Na Figura 18.1a, observa-se uma imagem da amostra, obtida por elétrons retroespalhados, mostrando a morfologia da superfície, na qual se vêem partículas menores e irregulares, porém alongadas, sobre placas maiores cuja superfície tem aparência mais lisa. A fim de se verificar quais destas duas morfologias correspondem ao HDL e ao polímero, foram feitos mapeamentos de elementos químicos cuja presença em cada tipo de material é bem conhecida, ou seja, o HDL contém Mg e Al, enquanto o polímero contém C. As imagens de mapeamento permitem comparar as predominâncias dos elementos em cada morfologia típica, como destacado pelos contornos elípticos inseridos sobre as imagens, nas mesmas cores usadas em cada mapa. Observa-se que as partículas menores são ricas em Mg e Al, correspondendo ao HDL, enquanto que as placas maiores e lisas são mais ricas em carbono e, portanto, correspondem ao polímero.



Fonte: Dados da Pesquisa

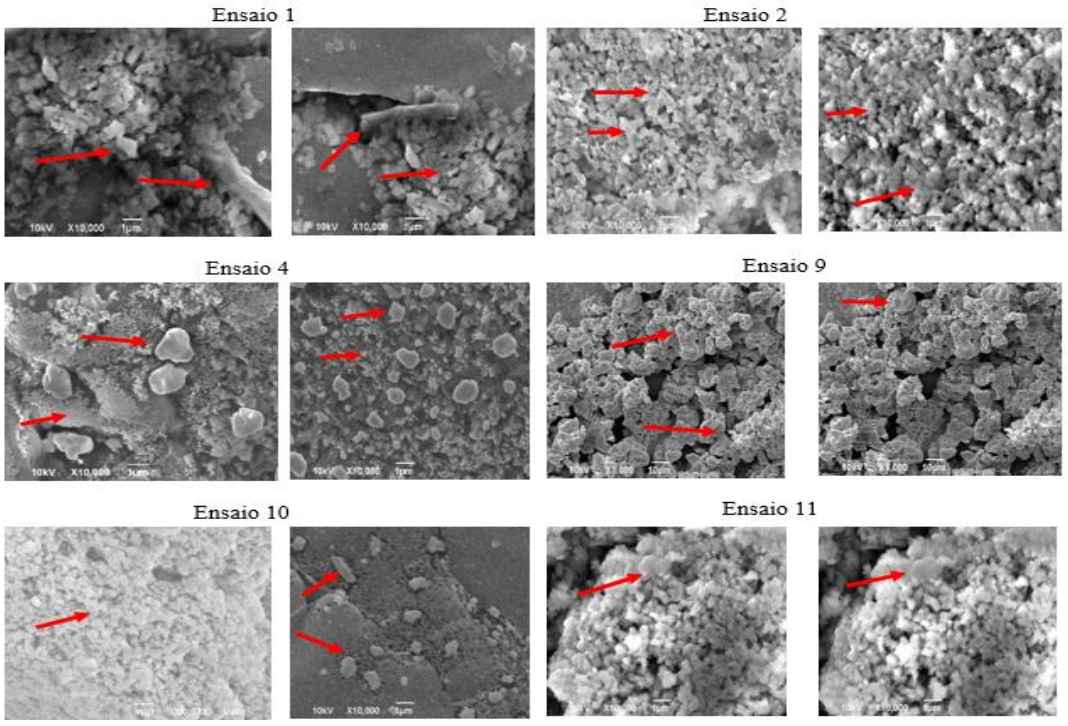
FIGURA 18. Mapeamento de elementos por EDS dos compósitos

Nota-se que a morfologia da imagem dos compósitos é caracterizada pela presença irregulares (HDL) situadas sobre uma superfície com aparência lisa (polímero) destacadas na Figura 18. Essa morfologia foi identificada pelos mapeamentos por EDS apresentados na Figura 18. É possível observar que entre as partículas há vãos que se criam a aparência de um grande número de poros que ocorre durante a aplicação da cerveja.

Os ensaios 1 e 10 na Figura 19, apresentaram regiões com predominância de HDL e poros formados entre os agregados de partículas destacadas. Ambos apresentam em suas concentrações maior quantidade de HDL que de polímeros. Nos ensaios 4 e 9 verifica-se partículas maiores de aparência mais lisas predominando os polímeros de acordo com o mapeamento realizado.

De maneira geral, os materiais apresentaram partículas com grãos irregulares, elevação dos agregados, o que pode corroborar a diminuição significativa da área superficial específica, e aumento dos tamanhos médios dos cristalitos (PAGANO et al., 2018).

A morfologia dos compósitos foi investigada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 19. As setas destacadas na figura mostram formatos caracteríticos do HDL e dos polímeros estudados para a formação dos compósitos.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 19. Micrografia de MEV experimento I

As imagens do MEV apresentam características atribuídas aos HDLs, ou seja, um material com uma morfologia aparentemente em camadas, com uma superfície aparentemente rugosa, além disso, os ensaios 4 e 9 apresentam partículas maiores com forma estendida estão localizadas sobre os aglomerados maiores; eles podem ser atribuídos aos polímeros.

A morfologia dos ensaios 1, 2, 10 e 11, são muito semelhantes entre si, onde é possível observar poros, uma estrutura em camadas, aparentando possuir formato hexagonal, porém não regular. Já nos ensaios 4 e 9 quase não se nota a presença de poros, observam-se aglomerados maiores identificados no mapeamento do EDS, como características predominantes dos polímeros.

5.3. APLICAÇÃO DOS COMPÓSITOS PARA CLARIFICAÇÃO DA CERVEJA

5.3.1. Primeira fase

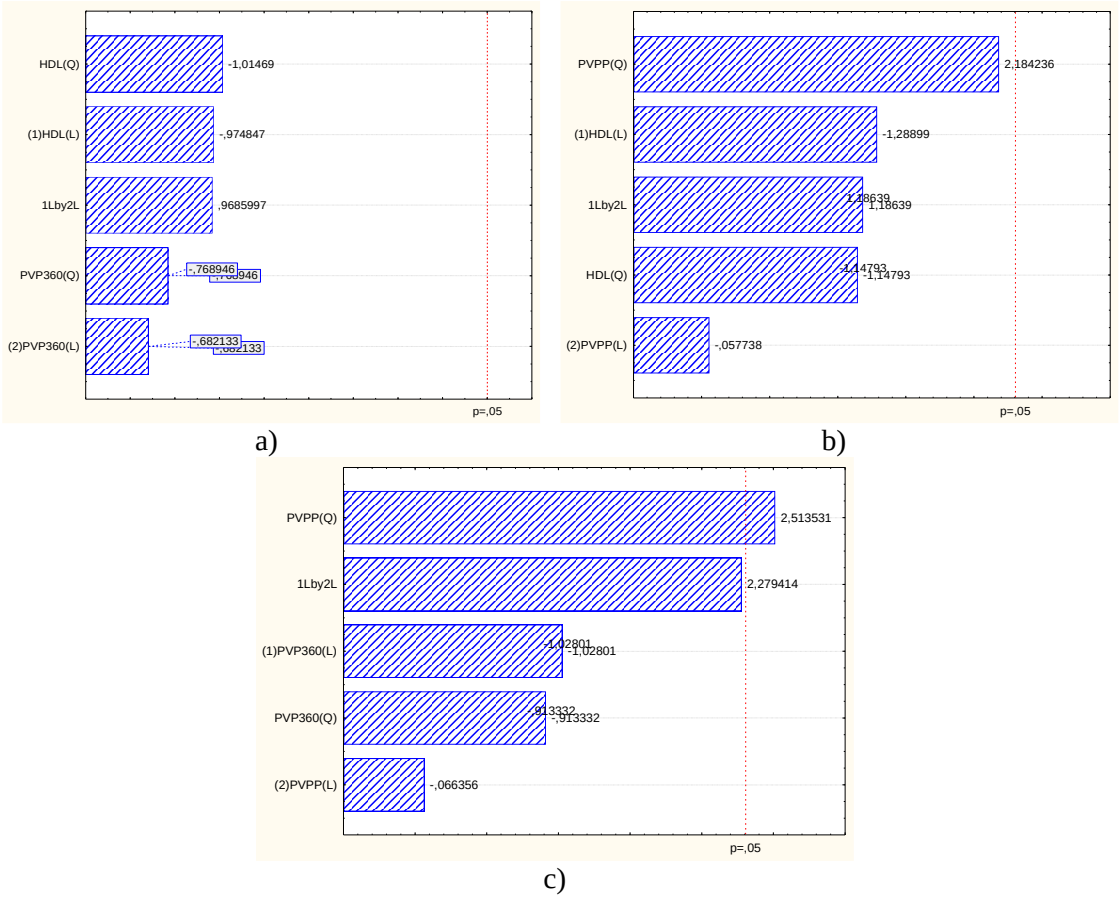
A Tabela 11 apresenta os níveis reais testados, os valores codificados e a resposta (Turbidez) obtida. Verifica-se que a turbidez variou entre 52,8 (Ensaio 6) a 290,0 (Ensaio 14).

TABELA 11. Matriz do planejamento experimental DCCR 2^3 e resposta (Turbidez) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal.

ENSAIOS	HDL (g/L)	PVP 360 (g/L)	PVPP (g/L)	TURBIDEZ (NTU)
1	4,01 (-1)	2,00 (-1)	2,00 (-1)	287,0
2	8,49 (+1)	2,00 (-1)	2,00 (-1)	107,0
3	4,01 (-1)	4,25 (+1)	2,00 (-1)	84,9
4	8,49 (+1)	4,25 (+1)	2,00 (-1)	67,0
5	4,01 (-1)	2,00 (-1)	4,25 (+1)	78,0
6	8,49 (+1)	2,00 (-1)	4,25 (+1)	52,8
7	4,01 (-1)	4,25 (+1)	4,25 (+1)	91,6
8	8,49 (+1)	4,25 (+1)	4,25 (+1)	96,0
9	2,50 (-1,68)	3,12 (0)	3,12 (0)	90,8
10	10,00 (+1,68)	3,12 (0)	3,12 (0)	78,1
11	6,25 (0)	1,25 (-1,68)	3,12 (0)	90,0
12	6,25 (0)	5,00 (+1,68)	3,12 (0)	104,0
13	6,25 (0)	3,12 (0)	1,25 (-1,68)	136,0
14	6,25 (0)	3,12 (0)	5,00 (+1,68)	290,0
15	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)	105,0
16	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)	104,0
17	6,25 (0)	3,12 (0)	3,12 (0)	105,0

Fonte: Dados da pesquisa.

O diagrama de Pareto (Figura 20) demonstra os resultados dos efeitos estimados das variáveis HDL, PVP 360 e PVPP sobre a turbidez da cerveja artesanal avaliada, considerando seus termos lineares e quadráticos, além da interação entre as variáveis. Verifica-se que somente o valor quadrático da variável concentração de PVPP avaliado com PVP360 foi significativo conforme apresentado na Figura 19c. Pode-se considerar que tal comportamento seria esperado com base no fato de o PVPP ser um clarificante de uso bem estabelecido. Considerando significativos os parâmetros com p-valores menores que 5% (p< 0,05), a princípio, as variáveis concentração de HDL e PVP360 apresentaram baixa influência sobre ação clarificante do compósito.



Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA 20. Diagramas de Pareto das magnitudes dos efeitos das variáveis concentração de a) HDL/PVP360, b) HDL/PVPP e c) PVP360/PVPP sobre turbidez de cerveja artesanal.

No caso específico do componente PVP360, é possível que tal observação seja decorrente do fato de que, dado o caráter solúvel deste polímero e seu uso como auxiliar na dispersão de HDL, a quantidade remanescente deste nas amostras é substancialmente inferior à dos demais. Ademais, o uso do HDL como clarificante é inédito, de forma que

dificilmente a condição ótima seria encontrada em um delineamento inicial. Portanto, nesta etapa a concentração de PVPP foi avaliada como a maior influência sobre a capacidade clarificante do compósito aplicado à cerveja artesanal avaliada.

As tabelas 12, 14 e 14 trazem os parâmetros resultantes da análise de variância ANOVA para pares de componentes usados nos compósitos, tal como foi feito para a construção dos diagramas de Pareto.

TABELA 12. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis PVP360 e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal.

Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
PVP360 (L)	1	2279,95	2279,95	1,0568	0,3340
PVP360 (Q)	1	1799,65	1799,65	0,8341	0,3877
PVPP (L)	1	9,50	9,50	0,0044	0,9487
PVPP (Q)	1	13630,08	13630,08	6,3178	0,0361*
Interação	1	11209,25	11209,25	5,1957	0,0521
Falta de Ajuste	3	26225,65	8741,88	4,0520	0,0503
Puro Erro	8	17259,17	2157,40		
Total	16	73075,90			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Observando a Tabela 12, referente ao par PVP360-PVPP, verifica-se através da ANOVA que o modelo superfície de resposta representou significativamente ($p<0,05$) a relação entre o PVPP e a resposta (Turbidez). Os parâmetros foram testados a 5% pelo teste F e foram avaliados os efeitos linear (L), quadrático (Q), interação entre as variáveis e falta de ajuste do modelo, sendo significativo ($p<0,05$) apenas o efeito quadrático(Q) da variável concentração de PVPP, com efeito não significativo para falta de ajuste, demonstrando que o modelo de superfície de resposta ajustou bem aos dados observados.

TABELA 13. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVP360 sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal.

Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
PVP360 (L)	1	4665,50	4665,50	0,7510	0,4113
PVP360 (Q)	1	5054,63	5054,63	0,8137	0,3933
HDL (L)	1	2284,35	2284,35	0,3677	0,5610
HDL (Q)	1	2902,80	2902,80	0,4673	0,5135
Interação	1	4605,89	4605,89	0,7414	0,4142
Falta de Ajuste	3	4308,72	1436,24	0,2312	0,8721
Puro Erro	8	49694,26	6211,78		
Total	16	73075,90			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Nesse primeiro momento observou-se que o HDL e o PVP360 não tiveram efeito

significativo sobre a clarificação da cerveja, como mostrado na Tabela 13. Contudo os resultados mostraram que essas variáveis podem ter seus valores otimizados considerando o comportamento das superfícies de resposta gerada e a insignificância da falta de ajuste dos modelos de superfície de resposta gerados, conforme apresentado nas Tabelas 13 e 14.

TABELA 14. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal.

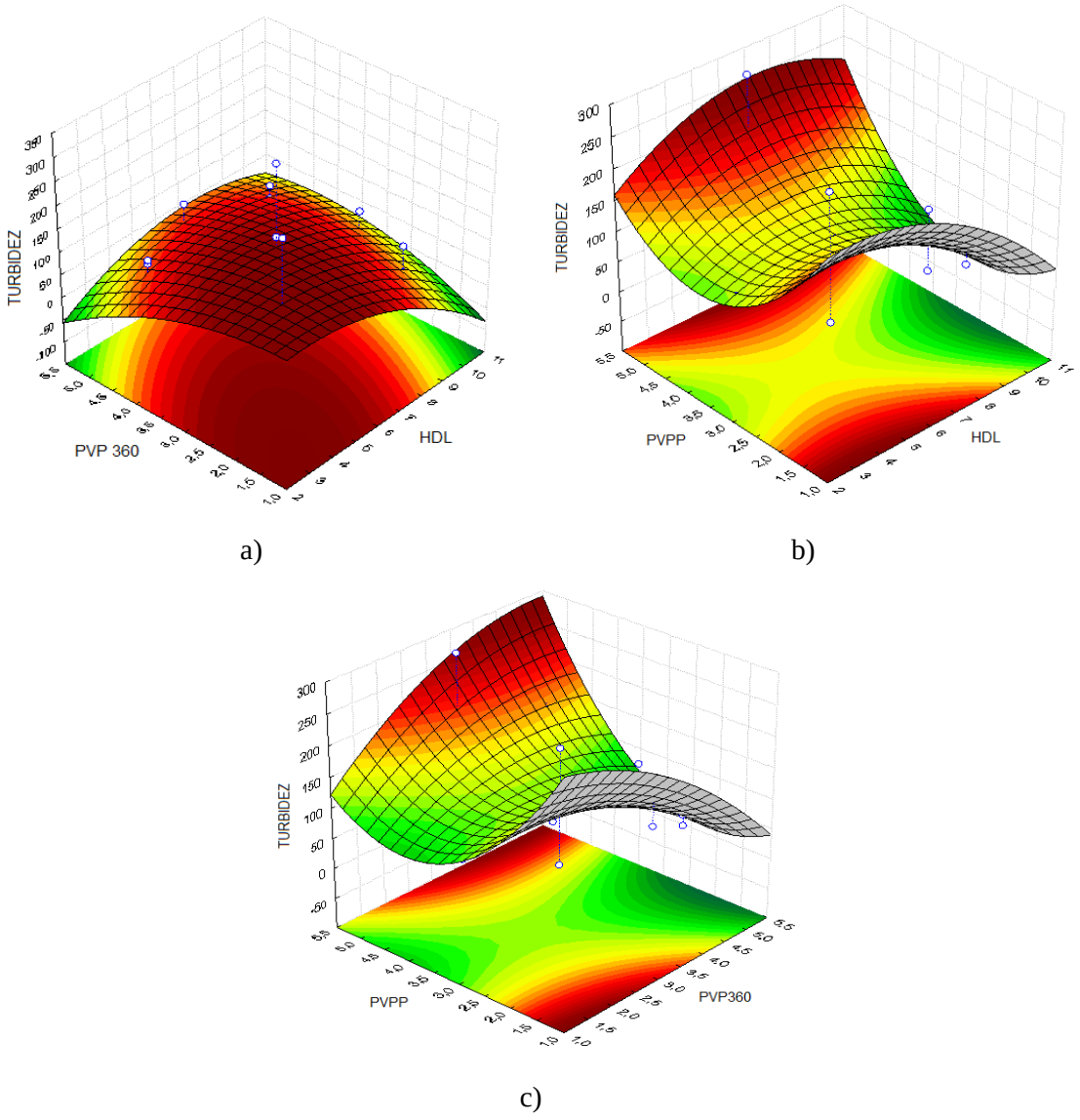
Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
HDL (L)	1	4655,70	4655,70	1,6614	0,2334
HDL (Q)	1	3692,48	3692,48	1,3177	0,2841
PVPP (L)	1	9,34	9,34	0,0033	0,9553
PVPP (Q)	1	13368,62	13368,62	4,7708	0,0604
Interação	1	3944,05	3944,05	1,4075	0,2695
Falta de Ajuste	3	24058,64	8019,55	2,8619	0,1041
Puro Erro	8	22417,00	2802,13		
Total	16	73075,90			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os gráficos de superfície de resposta resultantes estão apresentados nas Figuras 21a, 21b e 21c. Essas curvas de superfícies de resposta ajudam a entender a dependência do processo de clarificação da cerveja, através da obtenção da turbidez, em função das tendências de concentração das variáveis avaliadas.

Observado o comportamento da curva de superfície de resposta, representado na Figura 21a, observa-se que a utilização de clarificante contendo em sua formulação concentração de HDL abaixo de 8 g/L e de PVP360 menores que 4,0 g/L, contribuem para uma turbidez mais elevada tornando-se uma resposta indesejada para o processo de clarificação da cerveja. Quando avaliado a combinação de HDL e PVP360 para redução da turbidez (Figura 21a), percebe-se que a tendência de concentração de HDL ideal para que ocorra a diminuição da turbidez está na região acima de 9,0 g/L, já para o PVP360 a tendência de maior eficiência do clarificante está em valores acima de 4,5 g/L.

Observa-se que o aumento da concentração de HDL e PVP360, no compósito estudado, é fator importante para aumentar a eficiência da clarificação da cerveja, comprovada pela diminuição da turbidez da mesma. Porém, é importante ainda observar, através do modelo de superfície de resposta obtido (Figura 21a), que a menor eficiência da clarificação ocorre nas faixas de concentração de HDL entre 4,5 g/L e 8,5 g/L, já para o PVP360 ocorre entre 8 g/L a 11 g/L.



Fonte: Dados da Pesquisa

FIGURA 21. Superfície de Resposta para a Turbidez em função das variáveis PVP360 e HDL (a), PVPP e HDL (b) e PVPP e PVP360 (c).

Avaliando a curva de superfícies de resposta, representado na Figura 21b, verifica-se a influência das concentrações de HDL acima de 9,0 g/L e PVPP na faixa de 2,5 g/L a 4,5 g/L. Percebe-se que esses valores contribuem para a diminuição da turbidez. Isto é importante, pois dessa forma é possível desenvolver novas concentrações de compósitos que irão contribuir para que ocorra a clarificação desejável na cerveja. Um trabalho realizado por Ronconi (2016) sobre a avaliação de diferentes agentes clarificantes no processo de produção de cerveja mostrou que clarificantes à base de PVPP obteve melhor desempenho quando comparado a outro tipo de clarificante. O autor afirma que o clarificante A4 (25g/hL de composto à base de PVPP e Kappa-Carragena)

não apresentou muitas partículas em suspensão quando comparado às outras amostras do mesmo agente clarificante que apresentaram uma comparação menos e mais partículas em suspensão. O autor concluiu que o agente A, possui uma boa atração com as partículas de fermento em suspensão, facilitando a sua sedimentação, e assim tornando a cerveja mais clarificada.

A Figura 21c, através da curva de superfície de resposta, apresenta quais as faixas de concentrações de PVPP e PVP360 no composito tem maior eficiência sobre a diminuição da turbidez da cerveja. A curva de superfícies de resposta, demonstra que o polímeros PVP360 com concentração de 4,5 g/L a 5,5 g/L junto com o PVPP nas concentrações 2,5 g/L a 6,5g/L, apresentam boas respostas para diminuição da turbidez da cerveja.

5.3.2. Segunda fase

As três superfícies de repostas apresentadas (Figuras 21a, 21b e 21c) demonstram a tendência de concentrações dos componentes (HDL, PVPP e PVP360) para formulação do compósito, são eficientes aplicações para redução da turbidez. Observa-se que as concentrações acima de 2,5 g/L para o PVPP; 4,5 g/L para o PVP360 e 9,0 g/L para o HDL provavelmente trarão respostas mais desejáveis na aplicação do clarificante em elaboração. Isso poderá ser comprovado a partir de um novo estudo ajustando essas concentrações de compósitos e aplicando a cerveja, portanto, elaborou-se um novo delineamento experimental com base nestas conclusões parciais, conforme apresentado na Tabela 15.

TABELA 15. Fatores e níveis experimentais otimizados para avaliar o processo de clarificação da cerveja artesanal.

FATORES	**NÍVEIS EXPERIMENTAIS**				
	-1,68	**-1**	**0**	**1**	**1,68**
HDL (g/L)	8,0	9,62	12,0	14,38	16,00
PVP (g/L)	4,0	4,81	6,0	7,19	8,00
PVPP (g/L)	1,25	2,00	3,12	4,25	5,00

Fonte: Dados da pesquisa.

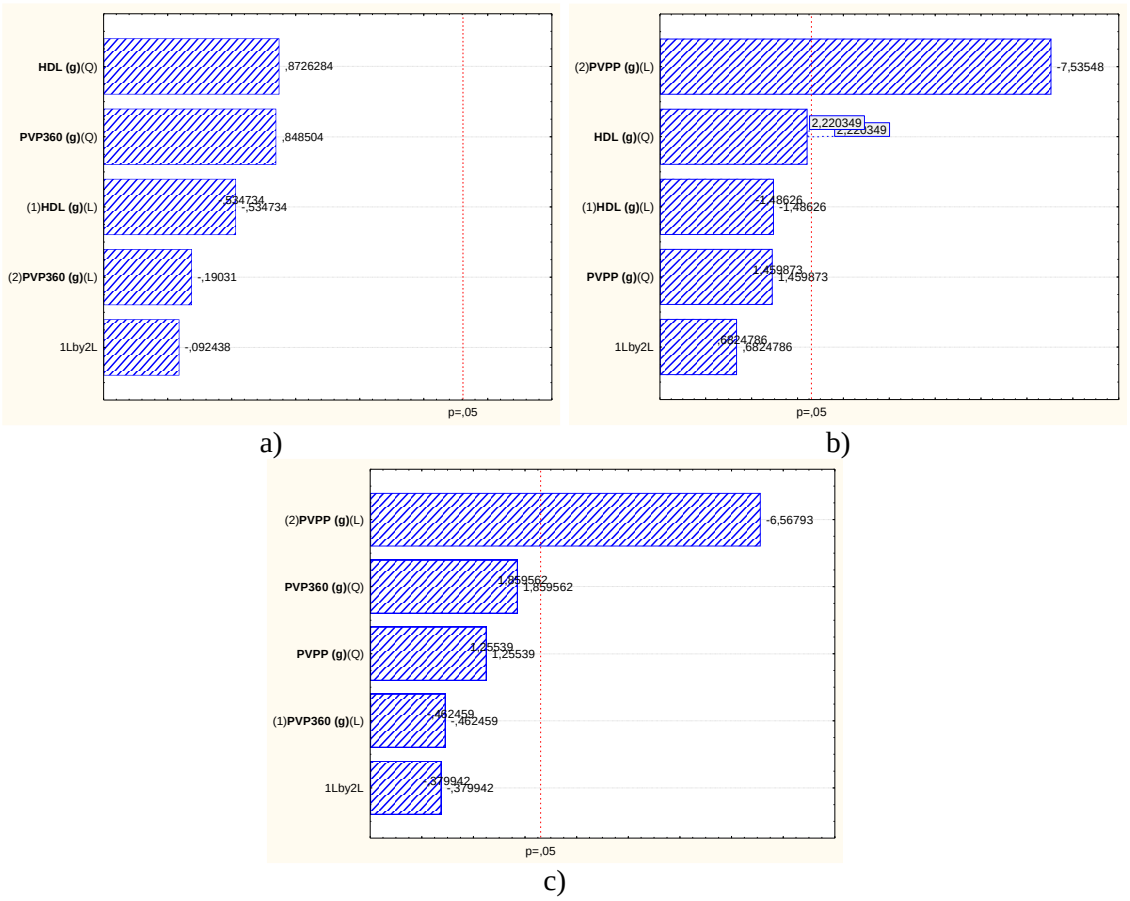
A otimização dos compósitos foi elaborada seguindo a matriz do planejamento experimental (Tabela 16), apresentadas as três variáveis codificadas e reais investigadas. Os ensaios foram realizados através da aplicação de um DCCR e da metodologia de superfície de resposta visando otimizar as condições para clarificação da cerveja.

TABELA 16. Matriz do planejamento experimental DCCR 2^3 e resposta (Turbidez) para avaliação do efeito das variáveis HDL, PVP360 e PVPP sobre o processo de clarificação de cerveja artesanal após otimização.

ENSAIOS	HDL (g/L)	PVP 360 (g/L)	PVPP (g/L)	TURBIDEZ (NTU)
1	9,62 (-1)	4,81,00 (-1)	2,00 (-1)	89,79
2	14,38 (+1)	4,81 (-1)	2,00 (-1)	87,44
3	9,62 (-1)	7,19 (+1)	2,00 (-1)	90,22
4	14,38 (+1)	7,19 (+1)	2,00 (-1)	87,10
5	9,62 (-1)	4,81 (-1)	4,25 (+1)	80,72
6	14,38 (+1)	4,81 (-1)	4,25 (+1)	80,43
7	9,62 (-1)	7,19 (+1)	4,25 (+1)	79,85
8	14,38 (+1)	7,19 (+1)	4,25 (+1)	78,78
9	8,00 (-1,68)	6,00 (0)	3,12 (0)	85,91
10	16,00 (+1,68)	6,00 (0)	3,12 (0)	83,03
11	12,00 (0)	4,00 (-1,68)	3,12 (0)	84,87
12	12,00 (0)	8,00 (+1,68)	3,12 (0)	83,85
13	12,00 (0)	6,00 (0)	1,25 (-1,68)	90,38
14	12,00 (0)	6,00 (0)	5,00 (+1,68)	75,89
15	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)	78,35
16	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)	79,26
17	12,00 (0)	6,00 (0)	3,12 (0)	79,84

Fonte: Dados da pesquisa.

Na Figura 22 estão apresentados os Diagramas de Pareto que demonstram os resultados dos efeitos estimados para as variáveis concentração de HDL, PVP 360 e PVPP, na composição do compósito, sobre a turbidez da cerveja artesanal avaliada, considerando seus termos lineares e quadráticos, além da interação entre as variáveis. Observa-se que somente o efeito linear da variável concentração de PVPP foi significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. A variável concentração HDL avaliado com PVPP obteve um efeito próximo de significativo, já o PVP360 apresentou baixa influência sobre ação clarificante do compósito.



Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA 22. Diagramas de Pareto das magnitudes dos efeitos das variáveis concentração de a) HDL/PVP360, b) HDL/PVPP e c) PVP360/PVPP sobre turbidez de cerveja artesanal após otimização.

Observando as Tabelas 17.1 e 17.2, verifica-se através da ANOVA que o modelo superfície de resposta representou significativamente ($p<0,05$) a relação entre o PVPP e a resposta (Turbidez).

TABELA 17.1. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis PVP360 e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após otimização.

Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
PVP360 (L)	1	1,2688	1,2688	0,2138	0,6560
PVP360 (Q)	1	20,5148	20,5148	3,4579	0,0999
PVPP (L)	1	255,9192	255,9192	43,1377	0,0001*
PVPP (Q)	1	9,3498	9,3498	1,5760	0,2447
Interação	1	0,8564	0,8564	0,1443	0,7138
Falta de Ajuste	3	5,9719	1,9906	0,3355	0,8003
Puro Erro	8	47,4609	5,9326		
Total	16	336,1744			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os parâmetros foram testados a 5% pelo teste F e foram avaliados os efeitos linear (L), quadrático (Q), interação entre as variáveis e falta de ajuste do modelo. Apenas o efeito linear (L) da variável concentração de PVPP foi significativo ($p<0,05$), com efeito não significativo para falta de ajuste, demonstrando que o modelo de superfície de resposta ajustou bem aos dados observados.

Na Tabela 17.2, observou-se que a variável concentração de HDL teve um efeito quadrático (Q) próximo ao significativo sobre a clarificação da cerveja, já o PVPP obteve efeito significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Considerando a insignificância da falta de ajuste dos modelos de superfície de resposta gerados, verifica-se que o modelo gerado pela superfície de resposta ajusta-se bem aos dados observados.

TABELA 17.2. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PVPP sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após a otimização.

Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
HDL (L)	1	9,9557	9,9557	2,2089	0,1755
HDL (Q)	1	22,2192	22,2192	4,9299	0,0571
PVPP (L)	1	255,9218	255,9218	56,7834	0,00006*
PVPP (Q)	1	9,6054	9,6054	2,1312	0,1824
Interação	1	2,0992	2,0992	0,4657	0,5142
Falta de Ajuste	3	5,7157	1,9052	0,4227	0,7419
Puro Erro	8	36,0559	4,5070		
Total	16	336,1744			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Observando a Tabela 17.3, verificou-se que a variável concentração de HDL e o PVP360 avaliados juntos não obteve efeito significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 17.3. Análise de variância ANOVA com interação para a avaliação do efeito da concentração das variáveis HDL e PV360 sobre a clarificação (Turbidez) da cerveja artesanal após otimização.

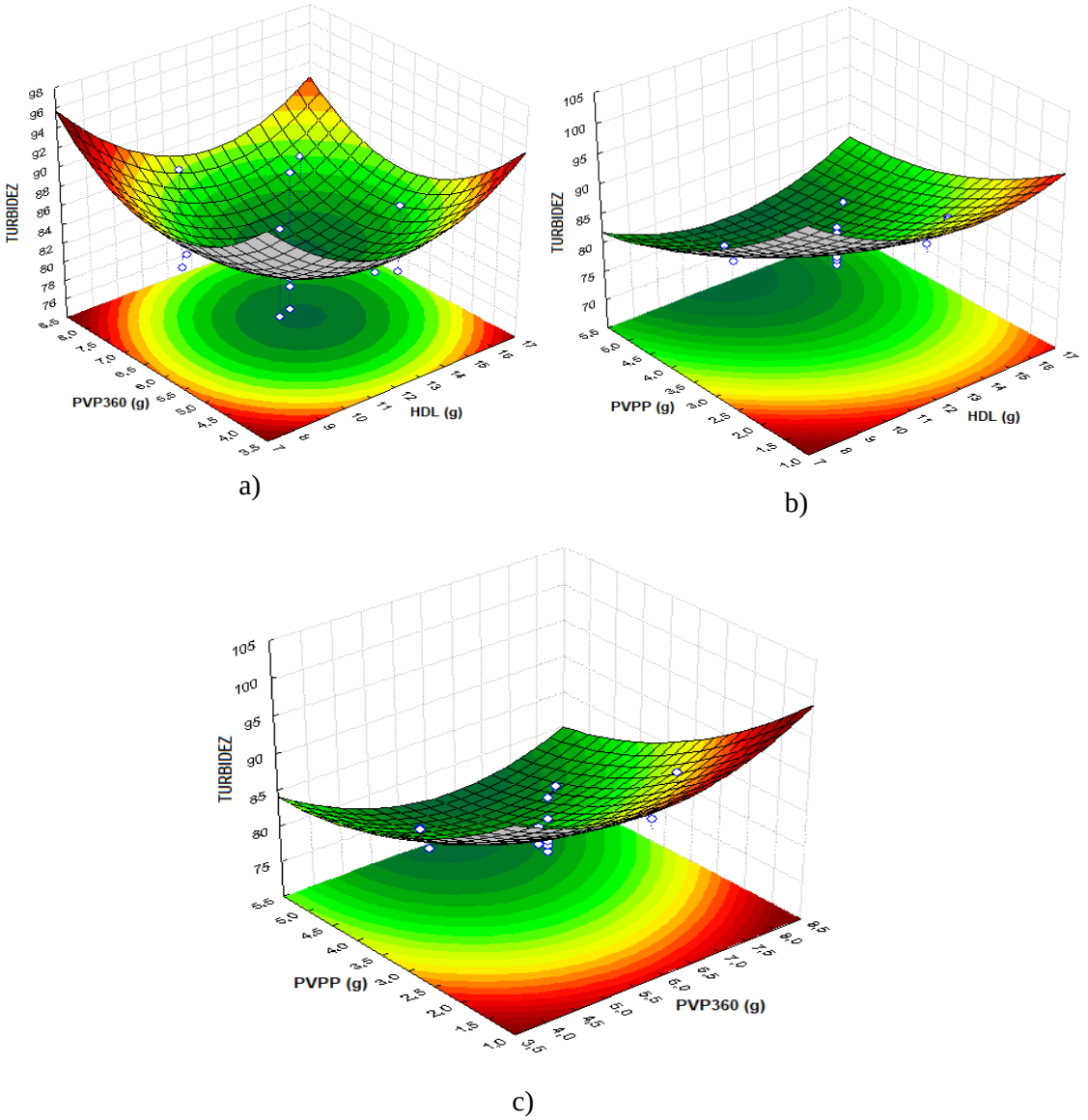
Fatores	GL	SQ	QM	Fcal	p-valor
HDL (L)	1	9,9777	9,9777	0,2859	0,6073
HDL (Q)	1	26,5714	26,5714	0,7614	0,4082
PVP360 (L)	1	1,2638	1,2638	0,0362	0,8538
PVP360 (Q)	1	25,1226	25,1226	0,7199	0,4208
Interação	1	0,2982	0,2982	0,0085	0,9286
Falta de Ajuste	3	3,3660	1,1219	0,0321	0,9916
Puro Erro	8	279,1557	34,8944		
Total	16	336,1744			

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os gráficos contendo as curvas de superfície de resposta para as variáveis avaliadas (HDP, PVPP e PVP360) estão apresentados nas Figuras 23a, 23b e 23c. As curvas de superfícies de resposta demonstram dependência do processo de clarificação da cerveja, através da obtenção da turbidez, em função das tendências de concentração das variáveis avaliadas.

A Figura 23a, 23b e 23c apresenta as curvas de superfícies de resposta dos experimentos efetuados após otimização das concentrações das variáveis avaliadas. De acordo com gráfico exibido na Figura 23a, é possível observar que para concentrações variando entre 11 e 14 g/L para o HDL e 5,0 a 7,0 g/L para o PVP360 apresentaram a respostas eficientes para processo de clarificação aplicados a cerveja, com valores mínimos de turbidez, em torno de 75,89 NTU (Ensaio 14). Considerando que o HDL tem muitos atributos vantajosos tais como: adsorventes, boa capacidade de troca aniônica (LIU et al. 2015; HOU et al. 2014; LEE et al, 2014), alta área de superfície específica e uma abundância de grupos funcionais insaturados em suas superfícies que promovem fortes propriedades de ligação de hidrogênio e permite a incorporação de polímeros formando compósitos que são capazes de reduzir a turbidez em bebidas no presente estudo.

A curva de superfície de resposta para clarificação da cerveja contendo as concentrações das variáveis HDL e PVPP estão apresentados na Figura 22b. Observou-se que quando para concentrações na faixa entre 11 e 14 g/L de HDL e acima de 4,0 g/L de PVPP, apresentaram respostas satisfatórias em relação a eficiência do processo de clarificação aplicados à cerveja, com menores valores de turbidez. Pode-se observar que os efeitos dos ensaios otimizados aplicados à cerveja foram satisfatórios quando comparados ao experimento anterior onde as concentrações dos compósitos ainda estavam em teste.



Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA 23. Superfície de Resposta para a Turbidez em função das variáveis PVP360 e HDL (a), PVPP e HDL (b) e PVPP e PVP360 (c) após otimização.

Essas observações demonstram o efeito significativo da variável concentração PVPP e HDL, podendo resultar em um compósito, uma vez que os HDLs são comumente utilizados como agente de refinamento em soluções de vinho para adsorção e remoção de proteínas responsáveis pela turbidez do produto (JALIL et al., 2014). O PVPP é utilizado em bebidas para a remoção dos polifenóis a fim de evitar a formação de turbidez na bebida (XIA et al., 2010).

De uma maneira geral, avaliando os dois experimentos estudados o menor valor de turbidez encontrado foi de 75,89 NTU. Para cerveja artesanal tipo Pale Ale (APA), foi encontrado no trabalho de Toleto et al., 2018, valores de turbidez de 195 (NTU) o mesmo

valor de turbidez foi encontrado no trabalho de Oliveira, 2021. Assim o estudo realizado apresenta um grande potencial uma vez que a segunda fase do experimento obteve valores inferiores ao encontrado na literatura tornando a cerveja com uma aparência mais límpida e desejavel para os consumidores.

5.4. VALIDAÇÃO

Com o intuito de validar o melhor ensaio observado, na segunda fase do experimento de aplicação do clarificante em desenvolvimento, verificou-se que o Ensaio 14 (12,00g/L de HDL, 6,00 g/L de PVP360 e 5,00g/L de PVPP) obteve o menor resultado (75,89 NTU). Ao utilizar as equações geradas pela superfícies de respostas e após aplicação somente da composição proposta no ensaio 14, obteve os resultados apresentados na Tabela 18.

TABELA 18. Validação do melhor resultado encontrado pela aplicação do clarificante composto por HLD, PVP360 e PVPP

ENSAIO	HDL (g/L)	PVP 360 (g/L)	PVPP (g/L)	TURBIDEZ NTU	
				Valor Predito	Valor Validado
14	12,00 (0)	6,00 (0)	5,00 (+1,68)	75,20	74,91

Fonte: Dados da pesquisa

Observando a Tabela 18 percebe-se que a avaliação do valor predito, referente a turbidez da cerveja, foi obtida com sucesso ao repetir o experimento nas mesmas condições feitas anteriormente, mostrando assim a eficácia do método e do programa estatístico utilizado para otimização da formulação do clarificante em questão.

5.5. CARACTERIZAÇÃO DOS ENSAIOS OTIMIZADOS APLICADOS A CERVEJA

Os ensaios otimizados após terem sido aplicados a cerveja, foram selecionados as melhores respostas que contribuíram para o processo de clarificação. Após a realização dessas escolhas, os compósitos foram caracterizados utilizando as mesmas técnicas aplicadas na primeira fase do experimento que tratava-se da elaboração dos compósitos conforme apresentado nos Apêndices I, II e III.

Para todas as caracterizações realizadas nos ensaios otimizados não foi notado nenhum comportamento diferente quando comparado aos resultados das caracterizações da primeira fase. Desse modo, visitando o apêndice é possível ter acesso aos resultados da caracterização dos ensaios otimizados.

6. CONCLUSÃO

Por meio dos estudos realizados a partir dos testes preliminares para formação dos compósitos verificou-se que o tipo de homogeneizador, o banho ultrassônico, foi o mais adequado para a formação dos compósitos. Estes resultados ficaram evidentes com base na caracterização por difração de raios X confirmando com resultados similares encontrados na literatura, sendo este tipo de homogeneizador o mais utilizado.

A produção dos compósitos foram desenvolvidas utilizando o planejamento estatístico, Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). A metodologia de superfície de resposta se mostrou uma ferramenta eficiente na determinação das condições ótimas dos componentes HDL, PVP 360 e PVPP, a fim de compreender quais variáveis seriam importantes ajustar tornando eficiente o processo de clarificação.

A aplicação dos compósitos na cerveja permitiu realizar novos ajustes de concentrações entre os compósitos estudados, obtendo resultados satisfatórios em conjunto com a pesquisa bibliográfica.

A caracterização realizada por difração de raios X permitiu observar que os compósitos desenvolvidos não apresentaram tipos de estruturas configuradas como esfoliados ou intercalados. O componente HDL misturados aos polímeros não sofreu desorganização em suas estruturas especialmente no plano (003), considerando este plano o mais sensível e relevante para avaliar a formação dos compósitos e tipos de estruturas que poderiam vir ocorrer.

Os espectros de FTIR para os compósitos foram interpretados como a soma das bandas do HDL e do PVPP separados tornando mais evidente as bandas de PVPP.

Foi observado que os compósitos caracterizados pela análise termogravimétrica tiveram comportamentos distintos em relação as porcentagens em massas dos resíduos finais nas curvas de TGA quando comparados aos componentes HDL, PVVPP de forma isoladas.

Diferentes formatos de partículas foi identificado na microscopia eletrônica de varredura com perfis de elementos químicos correspondentes ao HDL e aos polímeros: PVP360 e PVPP.

Contudo os compósitos desenvolvidos e aplicados a cerveja artesanal tanto na primeira fase quanto na segunda fase propiciou, em geral a diminuição da turbidez contribuindo com o processo da clarificação. Alguns compósitos obtiveram valores menores de turbidez quanto comparados ao da literatura. Assim, verifica-se que as

composições desenvolvidas é capaz de reduzir a turbidez otimizando o processo de clarificação da cerveja.

7. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

É interessante continuar com estudos utilizando novos materiais de HDL sintetizados, uma vez que, os resultados da pesquisa mostraram que há um grande potencial o desenvolvimento do HDL e PVPP como clarificante. Apresentando a necessidade de reajustar o HDL em termos de proporções, outra alternativa que deve ser levada em consideração é realizar novos testes com o HDL modificado.

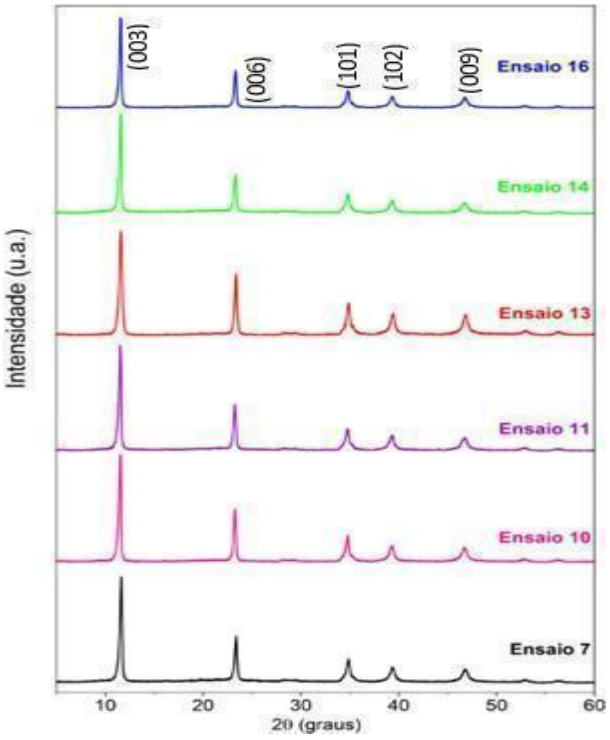
Outra proposta completar seria realizar a aplicação dos clarificantes em outros tipos de bebidas, visando confirmar a possibilidade de usá-las futuramente como clarificante industrial.

8. APÊNDICE

8.1.APÊNDICE I:

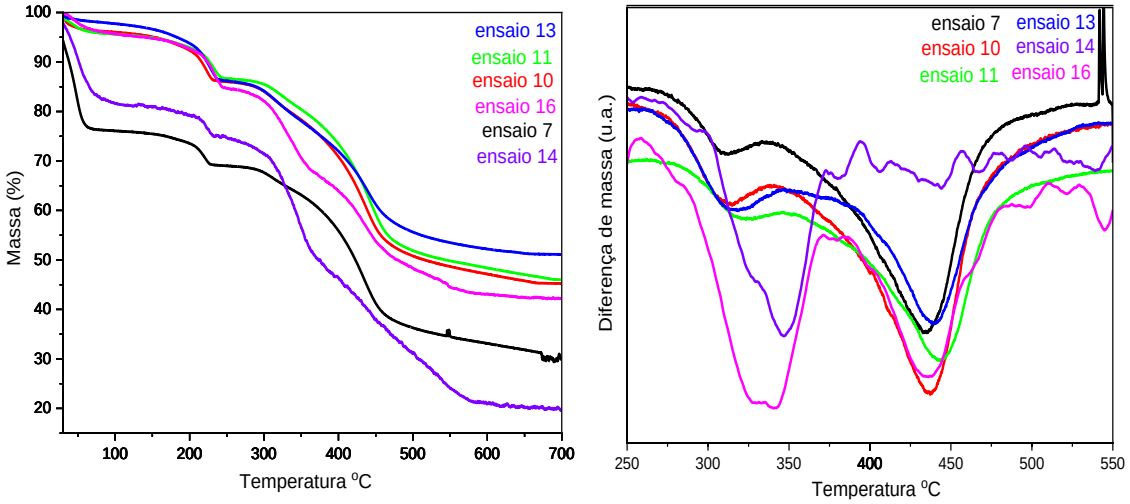
CARACTERIZAÇÕES DOS ENSAIOS OTIMIZADOS: EXPERIMENTO 2 – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

FIGURA X1. Difratogramas dos ensaios otimizados



Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA X2. Análise Termogravimétrica

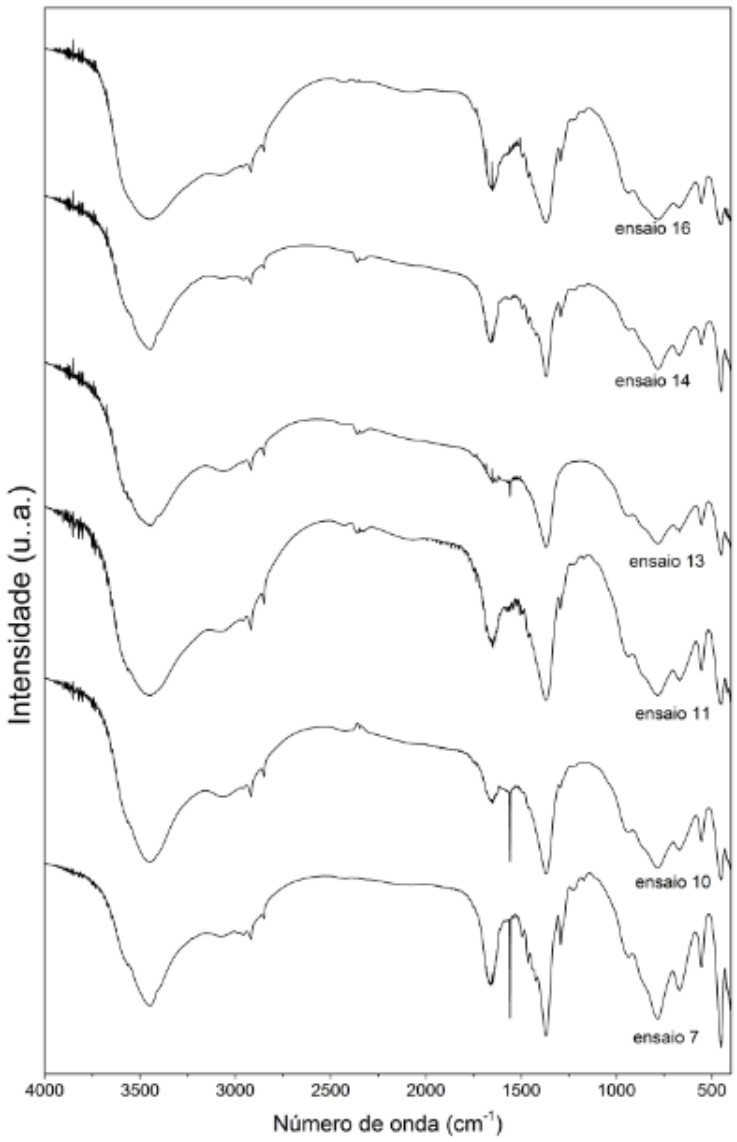


Fonte: Dados da pesquisa

8.2.APÊNDICE II

EXPERIMENTO 2 – ANÁLISE ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO – FTIR

FIGURA X3. Análise espectroscopia de absorção no infravermelho

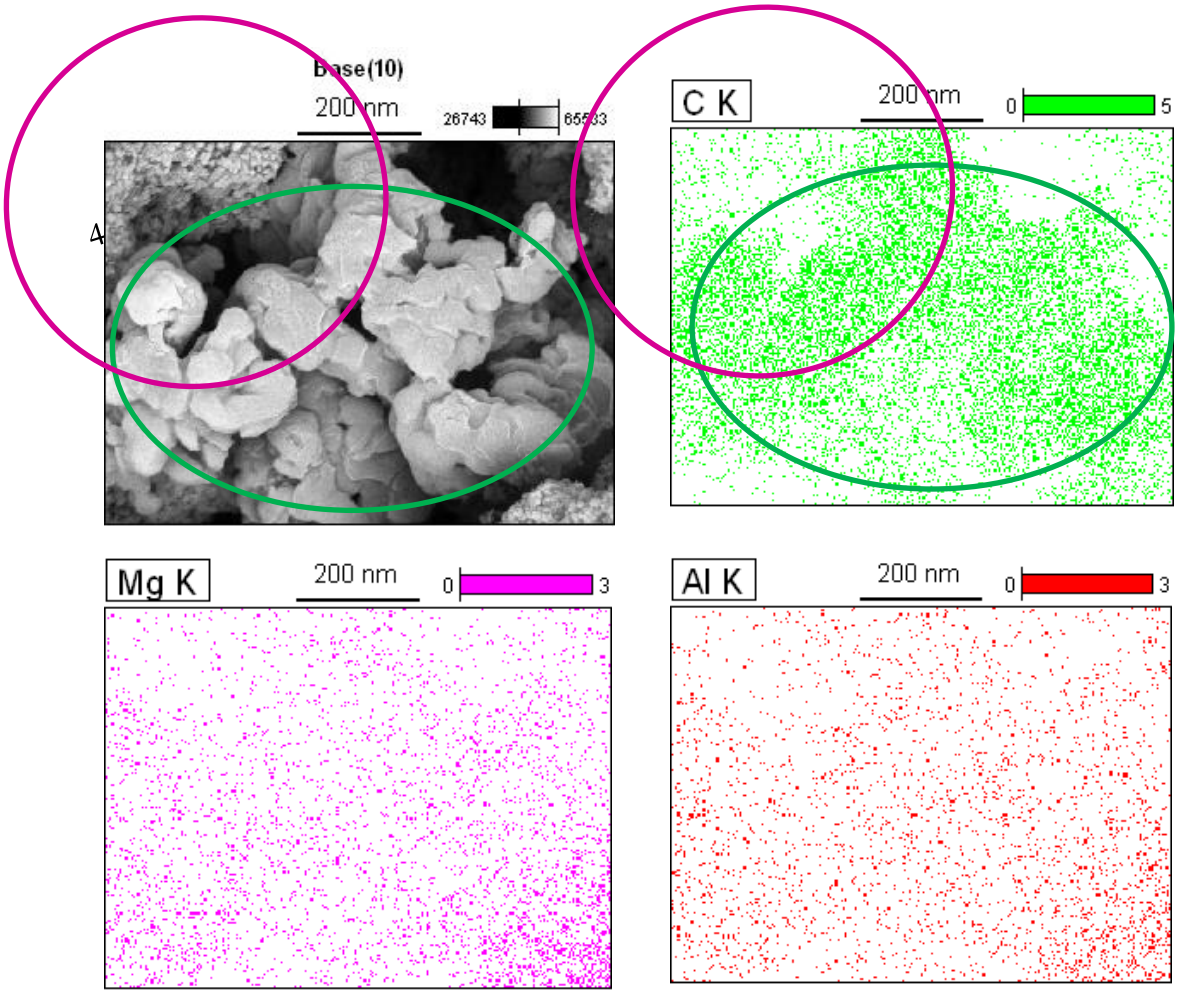


Fonte: Dados da pesquisa

8.3.APÊNDICE III

EXPERIMENTO 2- ANÁLISE DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV

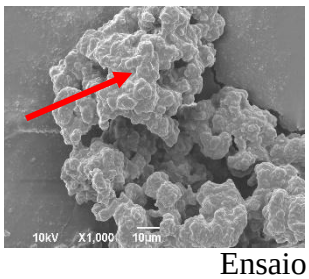
FIGURA X4. Mapeamento de elementos por EDS dos nanocompósitos



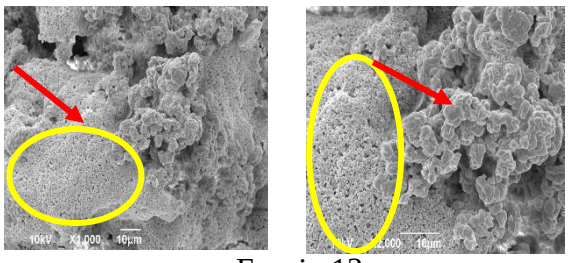
Fonte: Dados da pesquisa

FIGURA X5. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

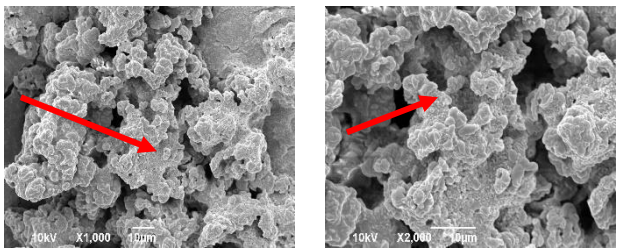
Ensaio 7



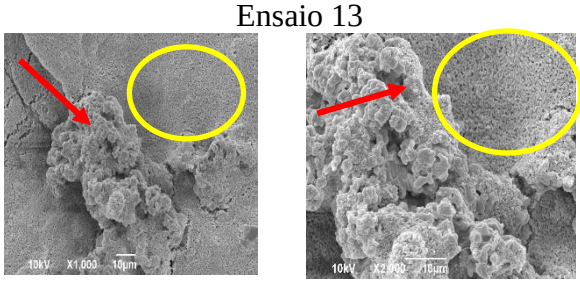
Ensaio 10



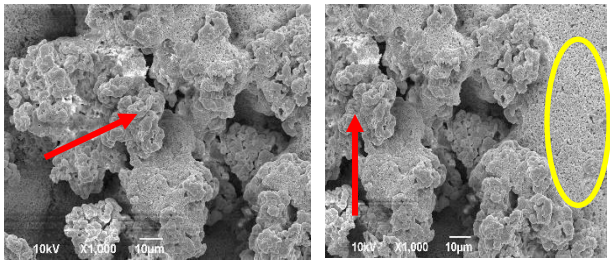
Ensaio 11



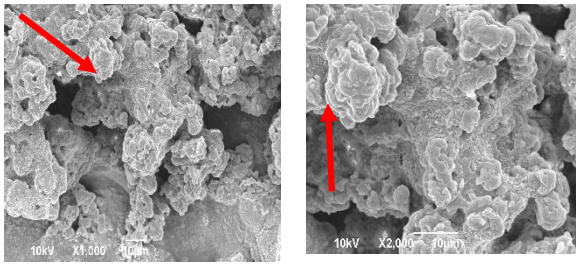
Ensaio 13



Ensaio 14



Ensaio 16



Fonte: Dados da pesquisa

8.4.APÊNDICE IV

EQUAÇÕES DAS SUPERFÍCIE DE RESPOSTA APRESENTADAS NO EXPERIMENTO 2

$$Turbidez = 216{,}29 - 11{,}38 * HDL + 0{,}50 * HDL^2 - 21{,}61 * PVP360 + 1{,}97 * PVP360^2 - 0{,}20 * HDL * PVP360 \quad Eq.1$$

$$Turbidez = 209{,}91 - 13{,}68 * HDL + 0{,}47 * PVPP^2 - 23{,}08 * PVPP + 1{,}66 * HDL^2 + 0{,}57 * HDL * PVPP \quad Eq.2$$

$$Turbidez = 168{,}70 - 20{,}21 * PVP360 + 1{,}84 * PVP360^2 - 11{,}72 * PVPP + 1{,}65 * PVPP^2 - 0{,}73 * PVP360 * PVPP \quad Eq.3$$

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDERRAZEK, K.; SRASRA, N. F.; SRASRA, E. Synthesis and Characterization of [ZnAl] Layered Double Hydroxides: Effect of the Operating Parameters Kaouther Abderrazek,. p. 346–353, 2017.

ABDELLAOUI, K. et al. A comparative study of the amaranth azo dye adsorption/desorption from aqueous solutions by layered double hydroxides. Applied Clay Science, v. 143, p.142- 150, jul. 2017.

ALCÂNTARA, A.C.S.; DARDER, M. Building up functional bionanocomposites from the assembly of clays and biopolymers. Chem. Rec.,18 (7–8), pp.696-712. 2018.

ALMEIDA, D. S. DE & BELO, R. F. C. Análise físico- química de cervejas artesanais e industriais comercializadas em Sete Lagoas–MG. Faculdade Ciências da Vida – FCV. 5(5), 1-16. 2017.

ALLOU, N.B.; SAIKIA, P.; GOSWAMEE, R.L. Hybrid nanocomposites of layered double hydroxides: an update of their biological applications and future prospects. Colloid Polym. Sci., 295(%), pp. 725-747. 2017.

BAIG, N.; SAJID, M. Applications of Layered Double Hydroxides Based Electrochemical Sensors for Determination of Environmental Pollutants: A Review. Tren. Environ. Anal. Chem. 16, 1–15, 2017.

BAMFORTH, C.W. Progress in brewing science and beer production. Annu Rev Chem Biomol Eng. v.8, p. 161-176, 2017.

BENÍCIO, L. P. F.; CONSTANTINO, V. R. L.; PINTO, F. G.; VERGÜTZ, L.; TRONTO, J.; COSTA, L. M. Layered Double Hydroxides: New Technology in Phosphate Fertilizers Based on Nanostructured Materials. ACS Sustainable Chem. Eng. v. 5, p. 399-409, 2017.

BENINCA, C.;COLMAN, T.A.D.; FILHO, M.A.S.C.;B. G.; SCHNITZLER, E. The termal rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at diferente temperatures. Thermochimica Acta, v. 552, p.65–69, 2013.

BERGAYA, F; DETELLIER, C; LAMBERT, J.F; LAGALY, G. Introduction to clay-polymer nanocomposites (CPN), 2013.

BERLY, J. R.; XAVIER, J. R. Halloysite for clay-polymer nanocomposites: effects of nanofillers on the anti-corrosion, mechanical, microstructure, and flame-retardant properties – a review. Journal of Materials Science, 58, 10943-10974, 2023.

BERTOLINO, V.; CAVALLARO, G.; LAZZARA, G.; MILIOTO, S.; PARISI, F.; SCIASCIA, L. Effect of the biopolymer charge and the nanoclay morphology on nanocomposite materials. Ind. Eng. Chem. Res., 55 (27), pp. 7373-7380, 2016.

BERTOLINO, V.; CAVALLARO, G.; LAZZARA, G.; MILIOTO, S.; PARISI, F. Halloysite nanotubes sandwiched between chitosan layers: novel bionanocomposites with multilayer structures. New j. Chem., (42), pp. 8384-8390, 2018.

BIANCO, G., SOLDI, M. S., PINHEIRO, E. A., PIRES, A. T. N., GEHLEN, M. H., & SOLDI, V. Thermal stability of poly (N -vinyl-2-pyrrolidone-co-methacrylic acid) copolymers in inert atmosphere. Polymer Degradation and Stability, 80, 567–574, 2003.

BIBI, I.; ICENHOWER, J.; NIAZI, N. K.; NAZ, T.; SHAHID, M.; BASHIR, S. Clay Minerals: Structure, Chemistry, and Significance in Contaminated Environments and Geological CO_2 Sequestration. Environmental Materials and Waste: Resource Recovery and Pollution Prevention. [S. l.]: Elsevier Inc., p. 543–567. 2016.

BINI, M., MONTEFORTE, F. Layered double hydroxides (LDHs): versatile and powerful hosts for different applications. J. Anal. Pharm. Res. 7 (1), 00206 , 2018.

BJCP – Beer Judge Certification Program. Beer Style Guidelines, p. 33-34, 2021.

BRASIL, C.; OLIVEIRA, D.F.; DUARTE, R.A.; et al. β-Glucanase Addition in Brewing Malt Produced by Reduced Time of Germination. Brazilian Archives of Biology and Technology. v.52, 2019.

BRIGGS, D.E. et al. Brewing Science and Practice. Cambridge: Woodhead, p.881, 2004.

BRIGGS, D. E. et al. Brewing Science and Practice. Cambridge: Woodhead, p.881, 2014.

CALABRESE, I., CAVALLARO, G., LAZZARA, G., MERLI, M., SCIASCIA, L., LIVERI, M.L.T. Adsorption 22 (2), 105–116, 2016.

CALABRESE, I., GELARDI, G., MERLI, M., LIVERI, M.L.T., SCIASCIA, L. Clay-biosurfactant materials as functional drug delivery systems: slowing down effect in the in vitro release of cinnamic acid. Appl. Clay Sci. 135, 567–574 , 2017.

CARMO, M.D; OLIVEIRA, G. M.; SOARES, G. B. Effect of the dispersive method in the preparation of the polyurethane/hydrotalcite nanocomposites by in situ polymerization, Applied Clay Science, Volume 101, Pages 128-135, ISSN 0169-1317.https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.07.027, 2014.

CAVALLARO, G. LAZZARA, S. MILIOTO, S.; PARISI, F. Halloysite nanotubes as sustainable nanofiller for paper consolidation and protection. J. Therm. Anal. Calorim., 117 (3), pp. 1293-1298. 2014.

CAVALLARO, G. LAZZARA, S. MILIOTO, S.; PARISI, F.; EVTUGYN, V.; ROZHINA, E. FAKHRULLIN, R. Nanohydrogel formation within the halloysite lumen for triggered and sustained release. ACS. Appl. Interfaces, 10 (9), pp. 8265-8273, 2018.

CAVANI, F. et al. Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. Catalysis Today, v. 11, n. 2, p. 173-301, 1991.

CIMINI, A.; MORESI, M. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. Food Science and Technology. n.90, p.132–137, 2018.

CHEN, J. et al. High-yield preparation of graphene oxide from small graphite flakes via an improved Hummers method with a simple purification process. Carbon, [S. l.], v. 81, p. 826-834, Jan. 2015.

CREPALDI, E.L.; VALIM, J.B. "Hidróxidos Duplos Lamelares: Síntese, Estrutura, Propriedades E Aplicações." Química Nova 21.3: 300-11, 1998.

CHOY, J.-H., CHOI, J.-S., Oh, J.-M., PARK, T. Clay minerals and layered double hydroxides for novel biological applications. Appl. Clay Sci. 36 (1), 122–132, 2007.

COSTA, F.R.; LEUTERITZ, A.; WAGENKNECHT, U.; JEHNICHEN, D.; HÄUβLER, L.; HEINRICH, G. Intercalation of Mg-Al layered double hydroxide by anionic surfactants: Preparation and characterization. Applied Clay Science 38 , pages 153-164, 2008.

COELHO, A.C.V.; SANTOS, P.S. Química Nova, v. 30, n. 5, p. 1282, 2007.

CUNHA, V. et al. Hidróxidos Duplos Lamelares: Nanopartículas Inorgânicas Para Armazenamento e Liberação de Espécies de Interesse Biológico e Terapêutico. Quim. Nova, v. 33, n. 1, p. 159 -171, 2010.

DALIA E. ABULYAZIED, ANTOANETA ENE, An Investigative Study on the Progress of Nanoclay-Reinforced Polymers: Preparation, Properties, and Applications: A Review, Polymers p.13, 4401. doi.org/10.3390/polym13244401. 2021.

DEVOLLI, A.; DARA, F.; STAFASANI, M.; SHAHINASI, E.; KODRA, M. The Influence of Protein Content on Beer Quality and Colloidal Stability. International Journal of Innivative Approaches Agricultural reserach, 2(4), 391-407. Doi: 10.29329/ ijiaar. 175.12. 2018.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S.K.; VERMA, M.; "Flocculation and Haze Removal from Crude Beer Using In-House Produced Laccase from Trametes Versicolor Cultured on Brewer's Spent Grain." Journal of Agricultural and Food Chemistry 60.32: 7895-904, 2012.

DURÁN-LARA, E. F.; LÓPEZ-CORTÉS, X.A.; CASTRO, R.I.; AVILA-SALAS, F.; GONZÁLEZ –NILO, F. D.; LAURIE, V.F.; SANTOS, L.S. Experimental and theoretical binding affinity between polyvinylpolypyrrolidone and selected phenolic compounds from food matrices. Food Chemistry, volume 168, pages 464-470, 2015.

DONADINI, G.; PORRETTA, S. Uncovering patterns of consumers' interest for beer: A case study with craft beers. Food Research International, 91, pp. 183-198, 2017.

FRANCO, P.; DE MARCO, I., The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review, Polymers, v.12, p.2-29, 2020.

ELSABEE, M. Z., & ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. Materials Science & Engineering C, 33(4), 1819–1841, 2013.

ESSLINGER, Hans Michael. Handbook of brewing: Processes, Technology e Markets. Weinheim: WILEY-VCH, 2009.

ESTEVES, A. C. C.; TIMMONS, A.B.; TRINDADE, T. Polymer based nanocomposites: synthetic strategies for hybrid materials. Scielo. Química Nova 27 (5), 2004.

FLORES A.B.; GRÄFF, A.; CORNELIUS, E.; SOUZA, C.F.V. "Perfil sensorial e avaliações físico-químicas de cerveja artesanal de chocolate e caramelo", Revista Destaques Acadêmicos, Vol.7, Num.4, pp.158-166, 2015.

GAN, Q.; HOWELL, J.A.; FIELD, R.W.; ENGLAND, R.; BIRD, M.R.; O'SHAUGHNESSY, C.L.; MEKECHINIE, M. T. "Beer Clarification by Microfiltration — Product Quality Control and Fractionation of Particles and Macromolecules." Journal of Membrane Science 194.2: 185-96, 2001.

GASSARA, F.; ANTZAK, C.; AJILA, C.M.; SARMA, S.J.; BRAR, S.K.; VERMA, M. "Chitin and Chitosan as Natural Flocculants for Beer Clarification." Journal of Food Engineering 166: 80-85, 2015.

GIRI, J.; ADHIKARI, R. "A Brief Review on Preparation and Application of MWCNT-based Polymer Nanocomposites." Bibechana 20.1: 65-75, 2023.

GONG, X.; PAN, L.; TANG, CY; CHEN, L.; HAO, Z.; LAW, W.-C.; WANG, X.; TSUI, CP; WU, C. Preparação, propriedades ópticas e térmicas de nanocompósitos de CdSe-ZnS/poli (ácido láctico) (PLA). Compos. Parte B Eng. 66, 494–499, 2014.

GU, H.; LIU, C.; ZHU, J.; WUJCIK, E.K.; SHAO, L.; SCAFFARO, N.R.; ZHANG, J.; GUO, Z. Introducing advanced composites and hybrid materials, Advanced Composites and Hybrid Materials 1-5, 1:1–5. https://doi.org/10.1007/s42114-017-0017-y, 2018.

HIGUERA-BARRAZA, O. A.; DEL TORO-SANCHEZ, C. L.; RUIZ-CRUZ, S.; MÁRQUEZ-RÍOS, E. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. Ultrasonics Sonochemistry, [S. l.], v. 31, p. 558–562, 2016.

HUGGETT, J.M. Clay Minerals. Encyclopedia of Geology (Second Edition) (second ed.), Elsevier Inc pp.341-349, 2021.

KAHLE, EM.; ZARNKOW, M.; JACOB, F. Beer Turbidity Part 1: A Review of Factors and Solutions, Journal of the American Society of Brewing Chemists, 79:99-114, 2021.

KHITOUS, M., SALEM, Z., & HALLICHE, D.Removal of phosphate from industrial wastewater using uncalcined MgAlNO3 layered double hydroxide: batch study and modeling. Desalination and Water Treatment, v. 57, n. 34, p. 1592015931, 2016.

KURAKULA, M., & RAO, G. S. N. K. Pharm aceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 60 (September),102046, 2020.

JAYANTHI, S.; ISHWARYA, R.; ANJUGAM, M.; ISWARYA, A.; KARTHIKEYAN, S.; VASEEHARAN, B. Purification, characterization and functional analysis of the immune molecule lectin from the haemolymph of blue swimmer crab Portunus pelagicus and their antibiofilm properties. Fish & Shellfish Immunology, [s.l], v. 62, p. 227-237, 2017.

JAMSHIDIAN, M.; TEERÃ, EA IMRAN, M.; AKHTAR, MJ; CLEYMAND, F.; DESOBRY, S. Propriedades estruturais, mecânicas e de barreira de filmes ativos de PLA–antioxidante. J. Food Eng. 110; 380–389, 2012.

KAHLE, E. V.; ZARNKOW, M.; JACOB, F. Beer Turbidity Part 1: A Review of Factors and Solutions. Journal of the American Society of Brewing Chemists. n.79:2, p. 99-114, 2021.

KAUR, B. et al. Progress in starch modification in the last decade. Food Hydrocolloids, v.26, n.2, p.398–404, 2012.

HORIUCHI, SHIN, AND YUKIMICHI NAKAO. "Polymer/Metal Nanocomposites: Assembly of Metal Nanoparticles in Polymer Films and Their Applications." Current Nanoscience 3.3: 206-14, 2007.

HORNBOGEN, E. Comparison of shape memory metals and polymers. Adv. Eng. Mater., 8, pp.101-106,10.1002/adem.200500193, 2006.

HUGGETT, R. J. Fundamentas of Geomorphology ed. Londres: Routledge, 2021.

LEBARON, P.C.; WANG, Z.; PINNAVAIA, T.J. Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview, Appl. Clay Sci. 15, 11-29; 1999. https://doi.org/10.1016/S0169-1317(99)00017-4.

LEE, S.M.; TIWARI. D. Organo and inorgano-organo-modified clays in the remediation of aqueous solutions: an overview, 59 (60), pp. 84-102, 2012.

LE BOURVELLEC, C.; RENARD, M.G.C. Interactions Between Polyphenols and Macromolecules: Effect of Tannin Structure. In: MELTO, L.; SHAHIDI, F. Encyclopedia of Food Chemistry, v. 2, p. 515-521, Elsevier Science Inc, 2019.

LEBARON, P. C.; WANG, Z.; PINNAVAIA, T. J. Polymer-layered silicate nanocomposites: an overview. Applied Clay Science, V.15, p. 11-29, 1999.

LI, R. et al. Enhancing phosphate adsorption by Mg/Al layered double hydroxide functionalized biochar with different Mg/Al ratios. Science Of The Total Environment, v. 559, p.121-129, jul. 2016.

LI, C. et al. Efficient and rapid adsorption of iodide ion from aqueous solution by porous silica spheres loaded with calcined Mg-Al layered double hydroxide. Journal Of The Taiwan Institute Of Chemical Engineers, v. 85, p.193-200, abr. 2018.

LI, L.; LI, B.; GU, W.; XU, Z.P. Modifying Layered Double Hydroxide Nanoparticles for Tumor Imaging and Therapy. Clays Clay Miner. 67, 72–80, 2019.

LINFORTH, R.S.T.; WESTWOOD, K.; SOMANI, A.; DOHERTY, N.; COOK, D.J."Hop Proanthocyanidins for the Fining of Beer." Journal of the Institute of Brewing 121.4: 490-95, 2015.

LINS, P. V. S.; HENRIQUE, D. C.; IDE, A. H.; DUARTE, J.L.S.; DOTTO, G. L.; YAZIDI, A.; SELLAOUI, L.; ERTO, A.; ZANTA, C. L. P S.; MELI, L. Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drug onto Mg Al/ LDH- activated carbono composite- Exeperimental investigation and statistical physics modeling. Colloids

and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspectos, volume 586, 124217, 2020.

LIU, C. Small and uniform Pd monometallic/bimetallic nanoparticles decorated on multi-walled carbon nanotubes for efficient reduction of 4-nitrophenol. Carbon, 94, 295–300, 2015.

MAHJOUBI, F. Z. et al. Zn–Al layered double hydroxides intercalated with carbonate, nitrate, chloride and sulphate ions: Synthesis, characterisation and dye removal properties. Journal of Taibah University for Science, [s.l.], v. 11, n. 1, p.90-100, jan. 2017.

MARQUES, V. G.; GONÇALVES, M. R. F.; OSORIO, A. G.; TESSARO, A. B.; DA SILVA, G. E. H.; PAGANOTTO, G. F. R.; CARREÑO, N. L. V. Evaluation of the influence of manufacture parameters during organoclay synthesis. Cerâmica, v. 64, n. 371, p. 298-305, Jul./Sept. 2018.

MASTANJEVI´C, K.; KRSTANOVI´C, V.; LUKINAC, J.; JUKI´C.; VULIN, Z.; MASTANJEVI´C, K. Beer- The Importance of Colloidal Stability (Non – Biological Haze). Brewing & Distilling, 2018.

MELO, V.F.; SINGH, B.; SCHAEFER, C.E.G.R.; NOVAIS, R.F. & FONTES, M.P.F.F. Chemical and mineralogical properties of kaolinite-rich Brazilian soils. Soil Sci. Soc. Am. J., 65:1324-1333, 2001b.

MIRANDA-TREVINO, J. C. and COLES, C. A. Kaolinite properties, structure and influence of metal retention on pH. Applied Clay Scince, 23, 133-139. 2003.

MONTAGANA, L. S.; FIM, F. C.; GALLAND, G. B.; BASSO, N.R.S. Synthesis of Poly(propylene) Graphite Nanocomposites by in Situ Polymerization. Macromolecular Symposia. Volume 299-300, issur 1. Special Issue: Brazilian Polymer Congress, pages 48-56, 2011.

MORADO, R. Larousse da Cerveja: A história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. São Paulo: Alaúde Editorial, 440 p, 2017.

MORAES, A. F. et al. Enhanced luminescence in ZnAlEu layered double hydroxides

with interlamellar carboxylate and β-diketone ligands. Journal of Alloys and Compounds, [S. l.], v. 771, p. 578–583, 2019.

MU, T.; LIU, L.; LAN, X.; LIU, Y.; LENG, J. Shape memory polymers for composites Compos. Sci. Technol.,160, pp.169-198,10.1016/j.compscitech.2018.03.018, 2018.

MURUGESAN, S.; SCHEIBEL, T.; Copolymer/Clay Nanocomposites for Biomedical Applications. Advanced Functional Materials. Volume 30, issue 17, 2020.

MUKHOPADHYAY, R.; De, N. Nano clay polymer composite: Synthesis, characterization, properties and application in rainfed agriculture. Glob. J. Biosci. Biotechnol.133–138, 2014.

NACHEL, M. Homebrewing for Dummies. 2ed. Canada: Wiley Publishing, p. 433, 2008.

NETO, L. D.; ANCHIETA, C.G.; DUARTE, J. L.S.; MEILI, L.; FREIRE. J. Effect of Drying on the Fabrication of MgAl Layered Double Hydroxides. ACS Omega, 6, 21819-21829, 2021.

NOGUEIRA, T.; BOTAN, R.; NETO, J. C. M.; WYPYCH, F.; LONA, L.; Adv. Polym. Tech 32, E660, 2013.

OLIVEIRA, C. M. Cerveja Artesanal: Matérias-primas, Processamento, Fermentação e Desenvolvimwnto Tcenológico de Fabricação. Ciências e Tecnologia de Alimentos: Pesquisa e Práticas Contemporâneas- volume 2. Capítulo 22, páginas 335-351, 2021. Doi:10.37885/210605172. 2021

PAGANO, C.; MARMOTTINI, F.; NOCCHETTI, M.; RAMELLA, D.; PERIOLI, L. Effects of different milling techniques on the layeres double hydroxides final properties. Applied Clay Science, volume 151, pages 124-133, ELSEVIER, 2018.

PARK, Y.; AYOKO, G. A.; FROST, R. L. Application of organoclays for the adsorption of recalcitrant organic molecules from aqueous media. Journal of Colloid and Interface Science, Maryland Heights, v. 354, n. 1, p. 292–305, 2011.

PARK, Y.; AYOKO, G.A; KRISTOF, J.; HORVÁTH, E.; FROST, R.L. J. Therm. Anal. Calorim. 110; 1087, 2012.

PÉREZ-RAMÍREZ, J. et al. A spectroscopic study of the effect of the trivalent cation on the thermal decomposition behaviour of Co-based hydrotalcites. Journal of Materials Chemistry, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 2529–2536, 2001.

PESETSKII, SS; BOGDANOVICH, SP; ADERIKHA, VN Nanocompósitos de polímero/argila produzidos pela dispersão de silicatos em camadas em termoplásticos fundidos. Em Antologia de Pesquisa em Síntese, Caracterização e Aplicações de Nanomateriais; IGI Global: Hershey, PA, EUA; pp. 1002–1030, 2014.

PIGNA, M.; DYNES, J.J.; VIOLANTE, A.; SOMMELLA, A.; CAPORALE, A.G. Sorption of Arsenite on Cu-Al, Mg-Al, Mg-Fe, and Zn-Al Layered Double Hydroxides in the Presence of Inorganic Anions Commonly Found in Aquatic Environments. Environ. Eng. Sci 33, 98–104, 2016.

POURFARAJ, Reza et al. Synthesis of hexagonal mesoporous MgAl LDH nanoplatelets adsorbent for the effective adsorption of Brilliant Yellow. Journal of Colloid and Interface Science, v. 508, p. 65–74, 2017.

ROJAS, R. Layered Double Hydroxides Applications as Sorbents for Environmental Remediation. In: ROJAS, Ricardo. Hydroxides: Synthesis, Types and Applications. Córdoba: Nova Science Publishers, Cap. 2. p. 39-71, 2012.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. Química Nova na Escola,São Paulo-SP, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

SALURI, M.; ROBAL, M.; TUVIKENE, R. "Hybrid Carrageenans as Beer Wort Fining Agents." Food Hydrocolloids 86: 26-33, 2019.

SEFTEL, E. M. et al. Insights into phosphate adsorption behavior on structurally modified ZnAl layered double hydroxides. Applied Clay Science, v. 165, n. August, p. 234–246, 2018.

SCIASCIA, L.; CASELLA, S.; CAVALLARO, G.; LAZZARA, G.; MILIOTO, S.; PRINCIVALLE, F.; PARISI, F. Olive mill wastewaters decontamination based on organo-nano-clay composites. Ceram. Int. *45*, 2751–2759. 2019.

SHAMEEM, M. M.; S.M. SASIKANTH, S.M.; RAJA ANNAMALAI, R.; RAMAN, R.G. "A Brief Review on Polymer Nanocomposites and Its Applications." Materials Today: Proceedings 45: 2536-539, 2021.

SILVA, D. F.; SOUZA, P. G.; ALBUQUERQUE, P. M. Avaliação da eficácia dos principais métodos de estabilização coloidal da cerveja tipo American Lager. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.7, n.4, p.34657-34670, 2021.

STEWART, G. G. et al. Handbook of brewing. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, p.777, 2018.

STRONG, G., & ENGLAND, K. Beer Judge Certification Program (BJCP) style guidelines. 2015.

SCIASCIA, L., CASELLA, S., CAVALLARO, G., LAZZARA, G., MILIOTO, S., PRINCIVALLE, F., PARISI, F. Olive mill wastewaters decontamination based on organo-nano-clay composites. Ceram. Int. 45 (2), 2751–2759, 2019.

TEIXEIRA-NETO, E.; TEIXEIRA-NETO, A.A. Química Nova, v. 32, n. 3, p. 809, 2009.

THEBERGE, J. E. Mineral Reinforced Thermoplastic Composites, Journal of Elastomers & Plastics 14,100-108, 1982.

TOLEDO, A. L.; SILVEIRA, P. M.; CAPUCI, AP S. PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL. 2018.

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potencial and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, volume 17, issue 4, pages 953-988, 2018.

WARD, I.L. Wort and beer clarification manual: Brewers Supply Group. Disponível em: https://bsgcraftbrewing.com/Resources/CraftBrewing/PDFs/Brewing_Processes_and_Techniques/WortandBeerFiningManual.pdf. Acesso em: maio. 2023.

XIA, E.-Q., DENG, G. F., GUO, Y.-J., & LI, H.-B. Biological activities of polyphenols from grapes. International Journal of Molecular Sciences, 11, 622–646, 2010.

YONGTING, L.; VEISI, H.; EBRAHIMI, F.; HEMMATI, S.; KARMAKAR, BIKASH. "Chitosan-starch Modified Kaolin for Immobilizing Au NPs: Investigation of Its Catalytic Performance, Antioxidant Potential and Study against Gastrointestinal Cancers." Inorganic Chemistry Communications 156: 111136, 2023.

ZHAO, Q. QI, H. J.; VIE, T. Recent progress in shape memory polymer: new behavior, enabling materials, and mechanistic understanding. Prog. Polym. Sci. 10.1016/j.progpolymsci.2015.04.001, 2015.

ZHANG, M. et al. Phosphate removal ability of biochar/MgAl-LDH ultra-fine composites prepared by liquid-phase deposition. Chemosphere, v. 92, n. 8, p.1042-1047, ago. 2013.

ZHANG, K., XU, Z.P., LU, J., TANG, Z.Y., ZHAO, H.J., GOOD, D.A., WEI, M.Q. Potential for layered double hydroxides-based, innovative drug delivery systems. Int. J. Mol. Sci. 15 (5), 7409–7428, 2014.

ZHU, M. et al. “Sorption of an anionic dye by uncalcined and calcined layered double hydroxides: a case study”. Journal Of Hazardous Materials, v. 120, n. 1-3, pg.163-171, 2005.