



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Larruama Priscylla Fernandes de Vasconcelos

Filmes Biopoliméricos à base de alginato de sódio e Enriquecidos com Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) para Conservação de Carne Bovina

Patos-PB
2021

Larruama Priscylla Fernandes de Vasconcelos

Filmes Biopoliméricos à Base de Alginato de Sódio e Enriquecidos com Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) para Conservação de Carne Bovina

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra

Orientador

Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira

Co-orientadora

Patos-PB

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

V331f Vasconcelos, Larruama Priscylla Fernandes de
Filmes biopoliméricos à base de alginato de sódio e enriquecidos com líquido da casca da castanha de caju (LCC) para conservação de carne bovina / Larruama Priscylla Fernandes de Vasconcelos. – Patos, 2020.
70f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

Orientação: Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra

Coorientação: Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira

Referências.

1. Alimentos perecíveis. 2. *Anacardium occidentale*.
 3. Embalagens biodegradáveis. 4. Filmes bioativos. 5. Sustentabilidade.
- I. Título.

CDU 576.8:619



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Rua Aprígio Veloso, 882, - Bairro Universitário, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

LARRUAMA PRISCYLLA FERNANDES DE VASCONCELOS

**FILMES BIOPOLIMÉRICOS À BASE DE ALGINATO DE SÓDIO E ENRIQUECIDOS
COM LÍQUIDO DA CASCA DACASTANHA DE CAJU (LCC) PARA CONSERVAÇÃO
DE CARNE BOVINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da como pré requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Aprovada em: 24/02/2021.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra (Orientador - PPGCSA/UFCG)

Profa. Dra. Marthyna Pessoa de Souza (Examinadora Externa - UFCG)

Profa. Dra. Marcia Almeida de Melo (Examinadora Interna - UFCG)



Documento assinado eletronicamente por **LEILSON ROCHA BEZERRA, PROFESSOR 3 GRAU**, em 24/02/2021, às 18:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARCIA ALMEIDA DE MELO, PROFESSOR(A) DOMAGISTERIO SUPERIOR**, em 25/02/2021, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **1300987** e o código CRC **8A040B5A**.

A Deus, meu alicerce, por me dar forças pra chegar até aqui e por tudo que fazes em minha vida. Aos meus pais, Socorro Sales e Joailson Vasconcelos, por cumprirem esse papel com maestria, pelo amor, incentivo, dedicação e ajuda incondicional para que todos meus objetivos sejam alcançados. Ao meu esposo, Alcides Júnior, por todo apoio, companheirismo e amor e aos meus amados avós, Terezinha e Adalberto Sales (*in memoriam*), que, de onde estiverem, vibram com essa conquista.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter sido meu alicerce durante toda essa jornada, guiando-me e me dando força para enfrentar os obstáculos do dia a dia, iluminando os caminhos da minha vida, por seu infinito amor e bondade, por todas as conquistas, incluindo a realização desse sonho, e por todas as bênçãos em minha vida. A ti, toda honra e toda glória!

Aos meus queridos pais, Socorro Sales e Joailson Vasconcelos, por jamais medir esforços para concretização de todos os meus sonhos, por todo amor, esforço, dedicação, incentivo, ensinamentos e abdições. O caminho não é fácil, mas vocês trilham com maestria. São meu maior exemplo! Amo vocês demais!

Ao meu amado esposo, Alcides Júnior, por todo incentivo, parceria, paciência, amor, cumplicidade e companheirismo, não apenas nesses dois anos, mas sempre! Te amo muito!

Ao meu querido irmão, Juann Fernandes, minha sobrinha amada, Clarisse Aurea, minha cunhada, Mayully, e a toda minha família, por todo amor e apoio de sempre e por vibrarem comigo a cada conquista alcançada! Agradeço a Deus por cada um de vocês!

A minha segunda família, nas pessoas dos meus sogros, Alcides e Núbia, minhas cunhadas, Juliana e Bárbara, sobrinhas do meu coração, Julia e Helena, por se fazerem sempre presente e torcerem sempre para o meu melhor.

Ao meu professor e orientador, Dr. Leilson Rocha, por ter aberto o caminho da nutrição animal e tecnologia dos alimentos para mim, assumindo com maestria a responsabilidade de me orientar durante esse percurso, por todos os ensinamentos, disponibilidade, paciência, compreensão, “puxões de orelha” e pela confiança em mim depositada durante esse período. O senhor é um grande exemplo profissional, ético e moral a ser espelhado o qual tenho grande estima e admiração. Muito obrigada!

A minha querida co-orientadora, Dra. Juliana Paula, por estar sempre disponível a me ajudar e mesmo de longe, se fazer presente. Por todo aprendizado compartilhado, incentivo, amizade e orientação durante o processo de confecção da dissertação. Tenho grande carinho e admiração por você. Obrigada por toda ajuda!

A minha grande amiga e companheira neste percurso, Débora Gomes, por estar sempre presente na minha vida, dividindo alegrias, aflições e conquistas, sempre nos ajudando,

uma parceria para vida toda. Você mora no meu coração! Além disso, quero agradecer as minhas queridas amigas e parceiras, dos bons e maus (aperreados) momentos, comuns nesse percurso, especialmente, Kallyne, Sabrina, Stella e Laisy, por toda ajuda no desenvolvimento do experimento; vocês são muito especiais para mim. Obrigada por tudo!

À professora Dra. Marthyna Pessoa, que foi peça chave no desenvolvimento dos experimentos que configuraram os dois capítulos dessa dissertação, por toda ajuda, disponibilidade, ensinamentos e por ter dividido a bancada conosco. A senhora tem meus sinceros agradecimentos e admiração!

A equipe do Laboratório de Nutrição Animal (LANA), em especial ao professor Dr. André Leandro, por toda disponibilidade e auxílio na realização das análises, desde a confecção da logística do projeto, e por todos os ensinamentos. Tenho grande respeito e admiração por você! Agradeço também ao senhor Otávio, por estar sempre prontamente disponível e disposto a ajudar sempre que necessário.

A Empresa Amêndoas do Brasil Ltda, localizada na cidade de Fortaleza – CE, pela doação do subproduto de caju, especialmente pela colaboração da professora Selma Elaine Mazzetto pelo fornecimento do LCC.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, bem como ao CNPq pelos recursos concedidos que auxiliaram veemente na condução deste projeto.

À Universidade Federal de Campina Grande – Patos, através dos Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Saúde Animal e seu corpo docente, pela oportunidade, ensinamentos e possibilidade de somar tantos conhecimentos primordiais para meu crescimento e desenvolvimento profissional.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

Introdução Geral	14
Referências	17
Capítulo I: Elaboration and characterization of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate..	20
1 Introduction	21
2 Materials and Methods	23
2.1 Fabrication of the biopolymer films	23
2.2 Thermogravimetry (TG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)	24
2.3 Color and Opacity	24
2.4 Thickness	25
2.5 Water vapor permeability	25
2.6 Mechanical Properties	25
2.7 Antimicrobial Activity of the CNSL	26
2.7.1 Antibacterial Activity of the films - Agar Well Diffusion Method	26
2.8 Determination of antioxidant activity of CNSL	27
2.8.1 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)	27
2.8.2 Ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS)	27
2.8.3 Total Antioxidant Capacity	27
2.8.4 Determination of the antioxidant activity of the films	28
2.9 Análise Estatística	28
3 Results	29
3.1 Thermogravimetry (TG) and Differential scanning calorimetry (DSC)	29
3.2 Color parameters, mechanical proprieties, Water vapor permeability and Thickness	30
3.3 Antimicrobial activity	31
3.4 Antioxidant activity	33
4 Discussion	34
5 Conclusions	38
References	39

	Capítulo II: Utilização de revestimento bioativo enriquecido com Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) na preservação de carne bovina.....	47
1	Introdução.....	49
2	Material e métodos.....	50
2.1	<i>Obtenção, manuseio e aplicação dos filmes adicionados de LCC.....</i>	50
2.2	<i>Análise físico-química de carnes após aplicação dos revestimentos.....</i>	51
2.2.1	<i>Coordenadas de cor das amostras.....</i>	51
2.2.2	<i>pH.....</i>	52
2.2.3	<i>Capacidade de retenção de água (CRA).....</i>	52
2.2.4	<i>Perda de peso por cocção.....</i>	52
2.2.5	<i>Força de cisalhamento.....</i>	52
2.2.6	<i>Teor de ferro heme.....</i>	53
2.3	<i>Análise microbiológica de carnes após aplicação dos revestimentos.....</i>	53
2.4	<i>Oxidação lipídica de carnes após aplicação dos filmes adicionado de LCC.....</i>	53
2.5	<i>Análise Estatística.....</i>	54
3	Resultados.....	54
3.1	<i>Cor das amostras.....</i>	54
3.2	<i>Parâmetros instrumentais de qualidade da carne.....</i>	55
3.3	<i>Oxidação lipídica.....</i>	57
3.4	<i>Atividade antimicrobiana.....</i>	58
4	Discussão.....	60
5	Conclusão.....	63
	Referências.....	64
	Conclusão Geral.....	70

RESUMO

Filmes são camadas finas de materiais utilizados em alimentos, que visam apresentar consideráveis efeitos sob sua conservação, distribuição e comercialização, protegendo-os contra danos microbiológico, químicos, físicos e/ou mecânicos. Dessa forma, objetivou-se produzir e caracterizar filmes biopoliméricos à base de alginato de sódio e enriquecidos com líquido da casca da castanha de caju (LCC) em diferentes proporções, para posterior aplicação em carne bovina, a fim de avaliar seu efeito na preservação deste produto. Para a caracterização dos filmes, o delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (0%, 0,5%, 1% e 1,5% de inclusão de LCC) e três repetições, onde observou-se formação uniforme dos filmes, em que a adição do LCC proporcionou melhor resistência térmica, aumento da espessura dos filmes ($p < 0,05$) em relação ao tratamento sem inclusão, redução da luminosidade ($p < 0,05$) e incremento ($p < 0,05$) das cores vermelho, amarelo, saturação e o índice de opacidade. A permeabilidade aumentou ao passo que se aumentou o nível de LCC ($p < 0,05$), especialmente para as concentrações 1% e 1,5% LCC, onde, entre ambos, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Então, a partir dos melhores resultados de caracterização, foram aplicados dois destes tratamentos (0 e 1% LCC) em carne bovina a partir do *longissimus dorsi*, juntamente com amostras controle (sem revestimento), onde realizou-se análises físico-química, oxidação lipídica e análises microbiológicas relativas a contagem total de mesófilos e psicrófilos, em intervalo de 3 tempos (0, 3 e 6), observando-se que ao longo do tempo de armazenamento, não obteve-se diferença estatística ($p > 0,05$) para as coordenadas de L^* , a^* e b^* . O pH das amostras controle aumentaram significativamente ($p < 0,05$), porém as amostras envolvidas com revestimento enriquecido de LCC mantiveram pH estável. A CRA não demonstrou diferença significativa ($p > 0,05$). A PPC evidenciou que o revestimento enriquecido com LCC foi capaz de melhorar a perda pós cocção no terceiro dia de armazenamento. A FC reduziu significativamente ($p < 0,05$), porém o revestimento com inclusão de LCC obteve as menores reduções. Neste tratamento, também observou-se diminuição da oxidação lipídica e menor crescimento microbiano de mesófilos. Recomenda-se, portanto, o uso do filme à base de alginato de sódio e com inclusão de LCC ao nível de 1%, tendo em vista a eficiência dos resultados relativos à caracterização e posterior aplicação, acreditando-se que este produto apresente características promissoras para preservação e conseqüente melhoria da qualidade de alimentos perecíveis.

Palavras Chaves: Alimentos perecíveis, *Anacardium occidentale*, Embalagens biodegradáveis, Filmes bioativos, Sustentabilidade.

ABSTRACT

Films are thin layers of materials used in food, which aim to present considerable effects on their conservation, distribution and commercialization, protecting them from microbiological, chemical, physical and / or mechanical damage. Thus, the objective was to produce and characterize biopolymeric films based on sodium alginate and enriched with liquid from the cashew nut shell (CNSL) in different proportions, for later application in beef, in order to evaluate its effect on the preservation of this meat product. For the characterization of the films, the design was completely randomized with four treatments (0%, 0.5%, 1% and 1.5% of inclusion of CNSL) and three repetitions, where uniform formation of the films was observed, in which the addition of LCC provided better thermal resistance, increased film thickness ($p < 0.05$) compared to the treatment without inclusion, reduced luminosity ($p < 0.05$) and increased ($p < 0.05$) the color parameters red, yellow, saturation and the opacity index. The permeability increased as the level of CNSL increased ($p < 0.05$), especially for concentrations 1% and 1.5% CNSL, where there was no significant difference between them ($p > 0.05$). Then, based on the best characterization results, two of these treatments (0 and 1% CNSL) were applied to beef from *longissimus dorsi*, together with control samples (without coating), where physical-chemical analysis, oxidation was performed lipid and microbiological analyzes related to the total mesophilic and psychrophilic counts, in an interval of 3 times (0, 3 and 6), observing that during the storage time, no statistical difference was obtained ($p > 0.05$) for the coordinates of L *, a * and b *. The pH of the control samples increased significantly ($p < 0.05$), but the samples involved with an enriched CNSL coating maintained a stable pH. The CRA showed no significant difference ($p > 0.05$). PPC showed that the coating enriched with CNSL was able to improve the loss after cooking on the third day of storage. The HR decreased significantly ($p < 0.05$), however the coating with inclusion of CNSL obtained the smallest reductions. In this treatment, there was also a decrease in lipid oxidation and less microbial growth of mesophiles. Therefore, it is recommended to use the film based on sodium alginate and with inclusion of CNSL at the level of 1%, in view of the efficiency of the results related to the characterization and subsequent application, believing that this product presents promising characteristics for preservation and consequent improvement of the quality of perishable foods.

Keywords: Perishable foods, *Anacardium occidentale*; Biodegradable packaging; Bioactive films, Sustainability.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I:

Table 1. Coloration index and mechanical properties of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate.....	31
Table 2. Antimicrobial activity of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate expressed as minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC).....	32
Table 3. Antimicrobial activity of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate in different concentrations using the Well Diffusion Agar method expressed as inhibition area diameter (mm).....	32
Table 4. Antioxidant activity expressed as IC50 ($\mu\text{g/mL}$) of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL).....	33

Capítulo II:

Tabela 1. Coordenada de cor e opacidade de carne bovina revestida com filmes bioativos a base de alginato de sódio e enriquecidos com LCC em diferentes tempos de armazenamento.....	55
Tabela 2. Parâmetros instrumentais de pH, CRA, FC, PPC e TF de amostras de carne bovina revestidas com filmes bioativos a base de alginato e enriquecidos com LCC realizadas em diferentes tempos de armazenamento (4°C).....	56

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I:

- Figure 1.** (a) Thermogravimetric (TG) and (b) differential scanning calorimetry (DSC) curves bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate..... 29
- Figure 2.** Antioxidant activity (elimination capacity of DPPH) of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate. Means \pm standard deviation followed by different lowercase letters differ by the Tukey at 5%. (DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo radical)..... 34

Capítulo II:

- Figura 1.** Valores de TBA das amostras de carne enriquecidas com revestimento bioativo a base de alginato de sódio e LCC sob diferentes períodos de armazenamento (4°C)..... 58
- Figura 2.** Contagem total de unidades formadoras de colônias (CFU) de mesófilos segundo amostras de carne bovina envolvidas com revestimentos a base de alginato e adicionado do Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) durante tempo de armazenamento (4°C)..... 59
- Figura 3.** Contagem total de unidades formadoras de colônias (CFU) de psicrófilos segundo amostras de carne bovina envolvidas com revestimentos a base de alginato e adicionado do Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) durante tempo de armazenamento (4°C)..... 60

Introdução geral

Grande parte das embalagens alimentares utilizadas atualmente são desenvolvidas utilizando polímeros e plásticos a base de petróleo, tendo em vista seu custo financeiro mais baixo, alta resistência e rigidez mecânica, bem como versatilidade de formas e capacidade de selagem a quente, consistindo em 37% do mercado total de materiais para embalagens de alimentos. Entretanto, este tipo de embalagem é uma fonte não renovável e não biodegradável e responsável por aumento crescente da poluição ambiental, o que as caracterizam como ambientalmente desfavorável (MULLER; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ; CHIRALT, 2017; COX et al., 2019).

Por isso, as exigências crescentes pela utilização de recursos sustentáveis que visem garantir alimentos seguros e que não contaminem o meio ambiente, impõem grandes desafios à indústrias e aos pesquisadores na produção de embalagens alimentares mais seguras do ponto de vista nutricional e ambiental. Nesse sentido, a expansão de pesquisas com formações de filmes e/ou revestimentos comestíveis biodegradáveis crescem de maneira exponencial (MOHAMED; EL-SAKHAWY; EL-SAKHAWY, 2020).

No processo de produção, processamento, distribuição e, especialmente, armazenamento, os alimentos sofrem deterioração por diversos processos químicos e microbiológicos, principalmente os perecíveis. Dessa forma, surge como alternativa, a utilização de embalagens comestíveis, como os filmes e/ou revestimento, que podem auxiliar veemente na manutenção de alimentos seguros do ponto de vista alimentar e nutricional, preservando-os por um período mais longo, e contribuir com a menor poluição do ambiente (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014). Tais filmes comportam-se como embalagem alimentar, que visa preservar o produto alimentício das barreiras externas, de modo a evitar danos na qualidade do produto e, eventualmente, aumentar sua vida útil (BASCHETTI; MINELLI, 2020).

Filmes constituem-se camadas finas de estruturas independentes, que visam revestir o alimento de forma integral ou parcial, formando uma barreira entre este e ambiente circulante, enquanto os revestimentos são aplicados diretamente na superfície do alimento ainda quanto solução filmogênica que, após secagem, leva a formação do filme, com os mesmos objetivos finais de conservação (PINHEIRO et al., 2010; MILANI; MALEKI, 2012; DEGHANI et al., 2018). Tais filmes são constituídos por

uma matrix macromolecular responsável pelas suas estruturas, e pelos componentes de qualidade alimentar e pela incorporação de plastificante, que tem por objetivo diminuir a fragilidade e aumentar a flexibilidade, de forma que o processamento dos biopolímeros apresentem-se nas mesmas condições que os plásticos não degradáveis (SHARMA; GHOSHAL, 2018).

Um dos polímeros mais utilizados como fonte de matéria-prima na composição de filmes são os polissacarídeos por ser sustentável, atóxico, amplamente disponível na natureza, além de ter permeabilidade seletiva ao dióxido de carbono e oxigênio (ERGINKAYA et al., 2014; MELLINAS et al., 2016; BERISTAIN-BAUZA et al., 2017).

Entretanto, Mohamed, El-Sakhawy e El-Sakhawy (2020) afirmam que não há polímero natural que, individualmente, seja capaz de fornecer todas as propriedades desejadas para a formação de filmes, sejam elas: propriedades de barreira à umidade, propriedades mecânicas e térmicas, capacidade de formar revestimentos e propriedades gelificantes; solubilidade em água, inodoro, insípido, incolor, translúcido, flexibilidade, atividade antimicrobiana, bem como antioxidante, responsável pelo transporte de aditivos alimentares como antioxidantes, corantes e sabores, entre outros. Dessa forma, é necessário selecionar e integrar os ingredientes para que atuem de forma sinérgica, a fim de obter o filme com todas as propriedades condizentes com o objetivo proposto.

Nesse contexto, a incorporação de óleos funcionais apresentam-se como excelentes alternativas por serem componentes de compostos voláteis e hidrofóbicos, produzidos naturalmente como resultado metabólito secundário pelas plantas, e apresentarem diversas propriedades biológicas, como atividade antimicrobiana, devido a seus constituintes de terpenóides, terpenos e outros compostos aromáticos e antioxidante, por ser rico em compostos fenólicos, onde sua incorporação nos filmes pode ser uma excelente opção para auxiliar no aumento do tempo de prateleira dos alimentos (HAN, 2014; BHAVANIRAMYA et al., 2019; SAHRAEE et al., 2019).

Assim, o Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC) surge como um óleo fruto do processamento da castanha do caju que, mesmo não sendo considerado essencial, apresenta em sua composição compostos fenólicos ricos em antioxidantes, surgindo, atualmente, como uma proposta fenólica economicamente possível (LOMONACO et al., 2017), bem como, rico em agentes antimicrobianos capazes de reduzir principalmente bactérias gram-positivas (VAN NEVEL et al., 1971). Kotzebue

et al. (2016) complementam que, devido à grande quantidade de compostos fenólicos naturais, por ser biodegradável e de baixo custo, o LCC mostra-se como uma matéria-prima promissora para utilização em diversas aplicações em indústrias de polímeros.

Este apresenta-se em dois tipos: natural, que contém especialmente quatro constituintes em sua composição (ácido anacárdico, cardanol, cardol e 6-metil-cardol), e o técnico, o tipo comercialmente disponível no mercado, constituído por cardol e, em maior proporção, por cardanol, em razão do processo de descarbolização durante o processo de torrefação para produção do natural em técnico, que converte o ácido anacárdico em cardanol. A presença elevada deste componente configura-se uma das características mais promissoras do óleo por possuir propriedade antioxidante e antimicrobiana (TYMAN et al., 1978; MAZZETTO et al., 2009; VOIRIN et al., 2014).

Apesar de não se esperar que os filmes e/ou revestimentos substituam na sua totalidade as embalagens oriundas do petróleo, acredita-se que possam ser utilizados para melhorar a estabilidade dos alimentos, especialmente os não perecíveis, diminuindo a troca de umidade, lipídios voláteis e gases entre os alimentos e o ambiente, evitando assim a contaminação ambiental e aumentando a eficiência das embalagens alimentícias renováveis, a medida que aumenta a vida útil dos alimentos, diminuindo então as necessidades de polímeros derivados do petróleo (TIAN et al., 2020). Cazon et al. (2017) complementam que, em um futuro próximo, os filmes biopoliméricos serão uma ótima opção como substituição dos plásticos sintéticos.

Nesse contexto, ressalta-se a importância da produção de filmes que visem, além de substituir as embalagens alimentícias oriundas do petróleo, responsáveis por um grande impacto na poluição ambiental, por matrizes poliméricas biosustentáveis, aumentar a vida útil de alimentos perecíveis, levando mais segurança alimentar e nutricional as famílias brasileiras, além de agregar valor a produtos e subprodutos de origem alimentar.

Assim, esta dissertação consiste em dois capítulos: O capítulo I, que será submetido a revista *Food and Bioprocess Technology* (Qualis A1; fator de impacto 3.356), tratou-se da produção e caracterização de filmes biopoliméricos enriquecidos com Líquido da casca da castanha de caju (LCC) em diferentes níveis, um óleo oriundo da castanha de caju, nunca previamente estudado no campo da agrotecnologia alimentar para este fim de pesquisa. O capítulo II, tratou-se da aplicação dos referidos filmes em carnes bovinas, a fim de avaliar, dentre outros, as características físicas-químicas, microbiológicas, antioxidantes das carnes revestidas e a capacidade de aumentar a vida

útil do produto, preservando a qualidade higiênico-sanitária e nutricional. O presente capítulo será submetido na revista *Ciência e agrotecnologia* (Qualis A3, fator de impacto 1.144).

Referências

- Baschetti, M. G., Minelli, M. (2020). Test methods for the characterization of gas and vapor permeability in polymers for food packaging application: A review. *Polymer Testing*, 106606. doi:10.1016/j.polymertesting.2020.106606
- Beristain-Bauza, S. del C., Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A. (2017). Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef. *Food Microbiology*, 62, 207–211. doi:10.1016/j.fm.2016.10.024
- Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Cox, K. D., Covernton, G. A., Davies, H. L., Dower, J. F., Juanes, F., Dudas, S. E. (2019). Human Consumption of Microplastics. *Environmental Science & Technology*, 53(12), 7068–7074. Doi:<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517>
- Dehghani, S., Hosseini, S. V., Regenstein, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, 240, 505–513. doi:10.1016/j.foodchem.2017.07.034
- Erginkaya, Z., Kalkan, S., Ünal, E. (2014). Use of Antimicrobial Edible Films and Coatings as Packaging Materials for Food Safety. *Food Processing: Strategies for Quality Assessment*, 261–295. doi:10.1007/978-1-4939-1378-7_10
- Gómez-Estaca, J., López-de-Dicastillo, C., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 35(1), 42–51. doi:10.1016/j.tifs.2013.10.008
- Han J.H. (2014). *Innovations in Food Packaging*, second ed. Elsevier Ltd, San Diego.

- Kotzebue, L. R. V., Ribeiro, F. W. M., Sombra, V. G., Feitosa, J. P. A., Mele, G., Mazzetto, S. E., Lomonaco, D. (2016). Spectral and thermal studies on the synthesis and catalyzed oligomerization of novel cardanol-based benzoxazines. *Polymer*, 92, 189–200. doi:10.1016/j.polymer.2016.04.005
- Lomonaco, D., Mele, G., Mazzetto, S. E. (2017). Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. *Cashew Nut Shell Liquid*, 19–38. doi:10.1007/978-3-319-47455-7_2
- Mazzetto, S. E., Lomonaco, D., Mele, G. (2009). Óleo da castanha de caju oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32, p. 732–741 (2009). doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>.
- Mellinas, C., Valdés, A., Ramos, M., Burgos, N., Garrigós, M. del C., Jiménez, A. (2015). Active edible films: Current state and future trends. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2), n/a–n/a. doi:10.1002/app.42631
- Milani, M. J., Maleki, G. (2012). Hydrocolloids in food industry. Food industrial processes, methods and equipment. Croatia: InTech publication. doi: 10.5772/32358
- Mohamed, S. A. A.; El-Sakhawy, M.; El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid- Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 116178. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116178
- Muller, J., González-Martínez, C., Chiralt, A. (2017). Combination of Poly(lactic) Acid and Starch for Biodegradable Food Packaging. *Materials*, 10(8), 952. doi:10.3390/ma10080952
- Pinheiro, A. C., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Vicente, A. A (2010). Use of coatings / films edible for food applications. *Boletim de biotecnologia*, 85:18-28.
- Sahraee, S., Milani, J. M., Regenstein, J. M., Kafil, H. S. (2019). Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review. *Food Bioscience*, 100451. doi:10.1016/j.fbio.2019.100451
- Sharma, R., Ghoshal, G., (2018). Emerging Trends in Food Packaging. Tian K., Bilal M., Ed. Singh P., Kumar A., Borthakur A. (2020). Research progress of biodegradable materials in reducing environmental pollution. Abatement of Environmental Pollutants; Trends and Strategies, Chapter 15, Elsevier Inc. 313–330.

- Tyman, J. H. P., Wilczynski, D., Kashani, M. A. (1978). Compositional studies on technical cashew nutshell liquid (CNSL) by chromatography and mass spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(9), 663–668. doi:10.1007/bf02682455
- Umaraw, P., Munekata, P. E. S., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., & Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science & Technology*. doi:10.1016/j.tifs.2020.01.032
- Van Nevel, C. J., D. I. Demeyer, and H. K. Henderickx. (1971). Effect of fatty acid derivatives on rumen methane and propionate in vitro. *American Society for Microbiology*, 21, 365-366.
- Voirin, C., S. Caillol, N. V. Sadavarte, B. V. Tawade, B. Boutevinab, and P. P. Wadgaonkar. 2014. Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. *Polymer Chemistry*, 5(9), 3142–3162. doi:10.1039/c3py01194a

Capítulo I

Elaboration and characterization of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate

Artigo será submetido a: Food and Bioprocess Technology (ONLINE), ISSN: 1935-5149

Fator de Impacto: 3.356

Qualis Capes: A1

Elaboration and characterization of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate

Elaboração e caracterização de filmes bioativos obtidos a partir da incorporação do Líquido da Casca da Castanha de Caju em matriz de alginato de sódio

ABSTRACT

The objective was to develop and characterize sodium alginate-based biopolymer films, with the addition of cashew nut shell liquid (CNSL). It was a completely randomized design with four treatments (0%, 0.5%, 1% and 1.5% of inclusion of CNSL) and three repetitions. Thermogravimetry, differential exploratory calorimetry, color and opacity, thickness, water vapor permeability, mechanical properties, antioxidant activity and antimicrobial of CNSL and films. The uniform formation of the films was observed and that the addition of the CNSL provided a better thermal resistance, increase thickness ($p < 0.05$) in relation to the treatment without inclusion, reduction of ($p < 0.05$) luminosity, and increment ($p < 0.05$) of the colors red, yellow, saturation and opacity index. The permeability increased as the level of CNSL increased ($p < 0.05$), especially for the concentrations 1% and 1.5% CNSL, where, between both, there was no significant difference ($p > 0.05$). The traction resistance decreased proportionally in function of the addition of CNSL ($p < 0.05$), as its inclusion increased the elasticity and the elongation of the films ($p < 0.05$). The antimicrobial activity of CNSL was evidenced for all the strains tested. In the films, this activity remained only as from the inclusion of 1%, as well as the antioxidant activity that was significantly preserved ($p < 0.05$) in the films, especially at this level. It is recommended the use of films whose inclusion of CNSL was at the level of 1%, having in mind the efficient thermal resistance, permeability and antimicrobial and antioxidant activities, which stabilized at this level.

Keywords: *Anacardium occidentale*, food conservation, bioactive packaging, antioxidant films, sustainability.

1. Introduction

The growing increase in research involving biodegradable films has gained greater progress recently due to the current panorama regarding the environmental impact arising from the high load of plastic waste disposal, considering that approximately 10 million plastic waste leaks into the oceans annually, equivalent to 80% of all discarded plastic, and by 2050 there may be more plastics than fish in their habitat (KAZA et al., 2018).

In this respect, films are characterized as thin layers of materials used in foods, which especially aim at presenting considerable effects on their conservation, distribution and commercialization, protecting them against microbiological, chemical, physical and/or mechanical damages. For their fabrication, different biopolymers can be

used, being the polysaccharides one of the most used materials recently in the confection of biodegradable films. Amongst such biopolymers, the alginate has been broadly used as it presents excellent barrier properties against oxygen, carbon dioxide and lipids, besides excellent mechanical properties such as tensile strength and elongation at break (TAVASSOLI-KAFRANI et al., 2015; MOHAMED et al., 2020).

Among its various types, sodium alginate is a copolymer formed by D-mannuronic acid and L-guluronic acid monomers, with great potential for production of biodegradable and edible films. It presents characteristics such as non-toxicity, unique colloidal properties such as gel production, formation of suspension, emulsion stabilizer, transparency, uniform barriers and good barriers against oxygen, despite presenting low resistivity to water due to its hydrophilic nature (COSTA et al., 2018). Song et al. (2011) complement that the alginate-based films can preserve the quality, as well as the validity of the foods increasing the water barrier, maintaining the flavor, and retarding the lipid oxidation.

One of the recent focuses in the fabrication of films is to increase their functionality, adding characteristics such as antioxidant and/or antimicrobial activities, by incorporating components with these properties, as for example, the functional oils that, in general, can increase the stability of food during storage, preventing food deterioration by delaying the lipid oxidation, as well as the growth of pathogenic microorganisms (UMARAW et al., 2020), especially in easily perishable foods. Furthermore, the addition of natural antioxidants can also improve the stability of the lipids and of the foods containing lipids, therefore preventing losses in the nutritional and sensorial quality of the foods (KENAWI; ABDEL-SALAM, 2011).

Rodrigues et al. (2009) highlight that several researchers consider the importance of antioxidants derived from low cost renewable sources, as for example the Cashew Nut Shell Liquid (CNSL), which is a cheap oil derived from the subproduct of the cashew (*Anacardium occidentale L.*), presenting in its composition: anacardic acid (60 to 65%), cardol (15 a 20%), cardanol (10%) traces of 2-methyl cardanol. For the removal of the nut, it is submitted to an industrial process though submission to high temperatures, in which the anacardic acid suffers a decarboxylation reaction, generating the technical CNSL, composed mainly of cardanol (60 to 65%), cardol (15 to 20%), polymeric material (10%) and traces of 2-methyl cardol. It presents itself as a dark

(almost black), viscous liquid, with a characteristic odor (RODRIGUES et al., 2006; LOPES et al., 2008; MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

The CNSL, according to Andrade et al. (2011), besides being a renewable, biodegradable, cheap source in abundance in Brazil, is highly rich in phenolic and bioactive compounds, mainly due to its high cardanol and cardol content, presenting interesting *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties, thus presenting powerful antioxidant activity, besides antimicrobial activity and being considered an excellent source of unsaturated phenol, relevant for the polymer production (JAYEOLA et al., 2018).

Kobayashi et al. (2016) state that the CNSL, presents several industrial applications, such as in the production of paints, varnishes, coatings, brake fluids, biodiesel, besides being recently used in the feeding of some animals, for instance, ruminants. However, there are no registers in specialized literature of CNSL incorporated in sodium alginate films, with investigation of their potential and properties. Thus, taking into account the environmental appeal, as well as the importance of packaging that, in addition to being self-sustainable, is able to increase the useful life of perishable foods, the present research aimed to formulate and characterize biopolymeric films based on sodium alginate, enriching them with CNSL, in order to observe their potential use in the agri-foods industry.

2. Materials and Methods

2.1 Fabrication of the biopolymer films

The sodium alginate-based films were prepared according to adapted methodologies of Oussalah et al. (2006) and Zactiti and Kieckbusch (2005). Initially a sodium alginate solution was prepared in the concentration of 3% (m/v). Subsequently, glycerol and Tween 80 were added to the sodium alginate solution, in concentrations of 2 and 0.5% (m/v, based on the alginate solution mass). The mixture was then heated to 70 °C in hot plate, and shaken with a glass rod for 1 h for total homogenization of the filmogenic solution (FS). Then, the technical CNSL was added to the filmogenic solution for the respective inclusion levels: 0; 0.5; 1.0 and 1.5% (m/m, based on FS mass), remaining under manual stirring (glass rod) for 20 min, until total homogenization (Figure 1). The technical CNSL used in the study was kindly provided

by Amêndoas do Brasil LTDA, Fortaleza, Ceará, Brazil, containing 84.4% cardanol and 15.6% cardol.

Finally, the emulsions were transferred to disposable Petri dishes (90 × 15 mm) properly identified and dried in an air circulation oven at 45 °C for 24 h. After drying, the films were removed using tweezers, wrapped in aluminum foil and stored in polyethylene ziplock bags at 4 °C for further analysis.

2.2 Thermogravimetry (TG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)

The thermogravimetric curves were obtained in thermal analyzer model SDT Q600 V20.9 Build 20, under inert atmosphere at a flow rate of 100 mL/min, heating rate of 10 °C/min, in a temperature range of 30 to 600 °C, using a platinum crucible containing between 6.5 and 8.5 mg of the sample.

The DSC curves were obtained by the same instrument used for thermogravimetry, the thermal analyzer, model SDT Q600 V20.9 Build 20, simultaneously, under inert atmosphere at a flow rate of 100 mL/min, heating rate of 10 °C/minute, over a temperature range of 30 to 300 °C, using a platinum crucible, containing about 8.255 mg of sample.

2.3 Color and Opacity

Five measurements were randomly performed on each 90 × 15 mm size film replica, and the experiment was performed in triplicate, thus totaling fifteen readings per type of film. The average of the values obtained was presented in the results. The color and opacity were determined using a digital colorimeter (CR 400; Minolta, Japan) calibrated with the white standard illuminant C. The parameters determined were luminosity or L* (L* = 0 [black] and L* = 100 [white]), red or a* (-a* = green and + a* = red) and yellow or b* (-b* = blue and + b* = yellow) (MILTENBURG et al., 1992). The saturation index or chroma (C*) was calculated according to Boccard et al. (1981) by the formula: $(a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$. The opacity (Y) was determined using the following equation: $Y (\%) = (Y_p/Y_b) \times 100$, where (Y_p) is the opacity of the coating in the black pattern and (Y_b) is the relative opacity in the white pattern.

2.4 Thickness

The thickness of the films was determined using a digital micrometer (Digimes, Brazil), in five different points of each film, chosen at random, in triplicate, thus totaling fifteen readings for each type of film, after the measurement of color and opacity, using the same samples of size 90×15 mm.

2.5 Water vapor permeability

Water vapor permeability (WVP) was determined gravimetrically as described by Souza et al. (2015). The coating was used to seal the top of a permeation cell containing distilled water (relative humidity at 100%, steam pressure at 2337 Pa and 20 °C); Next, the system was placed in a desiccator containing silica, at 20 °C and 0% relative humidity (water vapor pressure at 0 Pa). The cells were weighed for 10 h, always at intervals of 2 h. The inclination of the loss of mass versus time was obtained by linear regression. WVP was expressed in $\text{g/m}^2/\text{s}/\text{Pa}$ and calculated using the following equation: $\text{WVP} = (\text{WVTR} \times T)/\Delta P$, where, WVTR is the rate of water vapor transmission ($\text{g}/\text{m}^2/\text{s}$) through the film, T is the average thickness of the film (m) and ΔP is the partial difference of water vapor pressure (Pa) on both sides of the film.

2.6 Mechanical Properties

The tests for maximum tensile strength, modulus of elasticity and elongation at break were performed using the Universal Testing Machine (EMIC-DL-500), according to ASTM D882- 12 (2016) standards (Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting). The initial separation of the claws was 10 mm and the traction speed 5 mm/min. The data of the Stress-strain curves (MPa) versus Deformation (%) was collected and treated using the equipment's software. Young's module for the samples was reached considering the tangent of the elastic region of the Stress-strain \times Deformation curves. Elongation values at break were calculated as the ratio of final length at the point of the sample break to the initial length of a sample (10 mm) and expressed as a percentage.

10 repetitions were conducted for each sample with dimensions of 50 mm of length and 10 mm width. Before the analyses, the samples were kept for 2 days in a controlled environment at 25 °C and 50% relative humidity.

2.7 Antimicrobial Activity of the CNSL

Strains of *Salmonella typhimurium* (ATCC 10028), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 8626), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Escherichia coli* (ATCC 8739) were cultivated on Brain Heart Infusion (BHI) agar. After the incubation period, the colonies of each lineage were aseptically transferred to sterile saline solution (NaCl at 0.85%). The turbidity of the solutions was standardized with the 0.5 Mac Farland standard (106 UFC/mL).

The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the CNSL was performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) by the microdilution method in 96-well microplate with concentration ranging from 2 to 1024 $\mu\text{g/mL}$ by serial dilutions. 100 μL of BHI 10 broth (106 UFC/mL of each strain) were added in each well. The microorganisms were incubated on a rotary shaker (150 rpm) at 37 °C for 24 h. Subsequently, aliquots of the wells where no visible growth (turbidity) was observed were transferred to Petri dishes containing Agar BHI medium and incubated at 37°C for 24 h. The MBC was considered the lowest concentration from which no microbial growth was observed after the culture. The MIC was considered as the highest concentration where turbidity in liquid medium was not observed, but was observed growth after cultivation in solid medium. Azithromycin and sterile saline solution were used as positive and negative controls, respectively.

2.7.1 Antibacterial Activity of the films - Agar Well Diffusion Method

The antibacterial activity of alginate films with and without CNSL was evaluated using the agar well diffusion method, using the methodology described by Souza et al. (2015).

The sowing of the standard inoculum (0.5 of Mc Farland's scale) was carried out in the form of a carpet on the surface of Petri dishes containing half BHI agar with the aid of a dribiask handle. Then 5.0 mm diameter wells were made on each plate which were filled with 20 μL of each filmogenic solution with the different concentrations of CNSL. As positive and negative control, azithromycin (1028 $\mu\text{g/mL}$) and autoclaved distilled water were used, respectively. The inoculated plates were incubated at 37 °C

for 24 h. The antibacterial activity was evaluated by measuring the diameter of the growth inhibition zone around the well. All tests were performed in triplicate.

2.8 Determination of antioxidant activity of CNSL

2.8.1 DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

The antioxidant activity of CNSL was evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) elimination method described by Blois (1958). The analyses were performed in triplicate and the inhibition activities were calculated based on the percentage of PPHD removed. A vitamin E analog (Trolox®) was used as standard. The percentage of inhibition (I%) was calculated using the following equation: $I\% = [(Ac - As)/(Ac)] \times 100$, where *Ac* is the control absorbance and *As* is the sample absorbance. All tests were performed in triplicate. The IC₅₀ of DPH was calculated based on the linear regression of the percentage of DPH remaining in relation to the concentration of the sample.

2.8.2 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)

The antioxidant activity of CNSL by the ABTS test (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) was based on the generation of the cationic chromophore radical obtained from the oxidation of ABTS (RE et al., 1999). The measurements were performed in triplicate and inhibition activities were calculated based on the percentage of ABTS removed. A vitamin E analog (Trolox®) was used as standard. The percentage of inhibition (I%) was calculated as demonstrated previously. All the tests were performed in triplicate. The IC₅₀ of the ABTS was calculated based on the linear regression of the percentage of the remaining ABTS in relation to the concentration of the sample.

2.8.3 Total Antioxidant Capacity

The total antioxidant capacity of the CNSL was determined by the phosphomolybdenum method (PRIETO et al., 1999). The assay was based on the reduction of molybdenum⁺⁶ to molybdenum⁺⁵ by the sample and subsequent formation of a greenish phosphate/molybdenum⁺⁵ complex. Tubes containing the samples and reagents (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate and 4 mM ammonium

molybdate) were incubated at 100°C for 90 min. Subsequently, the absorbance of each solution was measured at 695 nm against a blank one. Ascorbic acid was used as a reference. The total antioxidant capacity (I%) was calculated using the I% equation demonstrated previously. All tests were performed in triplicate. The IC50 of the TAC was calculated based on the regression activity of the coating in relation to the sample concentration.

2.8.4 Determination of the antioxidant activity of the films

For the evaluation of the antioxidant activity of the biofilms the method of capture of the radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) was used from the adapted methodology of Blois (1958), according to a study by Souza et al. (2018). Rectangular samples of each film (20 mg) were placed in tubes containing 1 mL of DPPH methanolic solution (60 µM), the mixture was then gently stirred for 30 minutes at room temperature (25 °C) in the dark. Tubes containing only the DPPH solution were used as control. Subsequently 200 µL of the solution were transferred to 96-well plates and the absorbance measured at 515 nm (ELISA reader, Bio-Rad). The percentage of free radical elimination by the sample was calculated according to the following equation:

$$\text{DPPH elimination capacity} = \frac{\text{Abs515}_{\text{control}} - \text{Abs515}_{\text{sample}}}{\text{Abs515}_{\text{control}}} \times 100$$

Where:

Abs515_{sample} corresponds to the absorbance of the tubes containing the alginate films with or without CNSL and Abs515_{control} corresponds to the absorbance of the control tubes.

All determinations were performed in triplicate and the results were expressed as mean ± standard deviation.

2.9 Statistical Analysis

All experiments were performed in triplicate and the results expressed as mean ± standard deviation. The means of the groups were compared using unidirectional analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey using the GraphPad Prisma software. Statistical data were considered significant with $p < 0.05$.

3. Results

3.1 Thermogravimetry (TG) and Differential scanning calorimetry (DSC)

The thermogravimetric curves of the studied materials are in Figure 1, where it is possible to observe that all the films presented two main events of thermal degradation. The first event of mass loss, is associated with moisture loss in the films, where the mass of lost moisture decreases as the CNSL content increases, thus contributing to the increase of hydrophobicity of films and consequently greater microbiological stability. The second event concerns thermal degradation, whose initial temperature of this degradation (T_{onset}) was similar for all films (183 and 184 °C). However, while the films without CNSL addition and the one that received 0.5% presented similar temperature ranges of thermal degradation (2° and main thermal event of the TG curve), being 129 to 270 °C and 124 to 269 °C, respectively, indicating that these two higher levels have improved the thermal stability of the respective films, given the decrease in the speed of degradation.

The 1st peak at around 70 °C is an endothermic event relative to the humidity present in the films, as already observed in TG curves. The 2nd peak corresponds to an exothermic event relative to the beginning of thermal degradation of films, in which the inclusions of 0; 0.5; 1 and 1.5% presented values of 227, 249, 252 and 256 °C, indicating that CNSL improves the thermal stability of films, with emphasis on the two largest inclusions of CNSL (1 and 1.5%), corroborating TG curves.

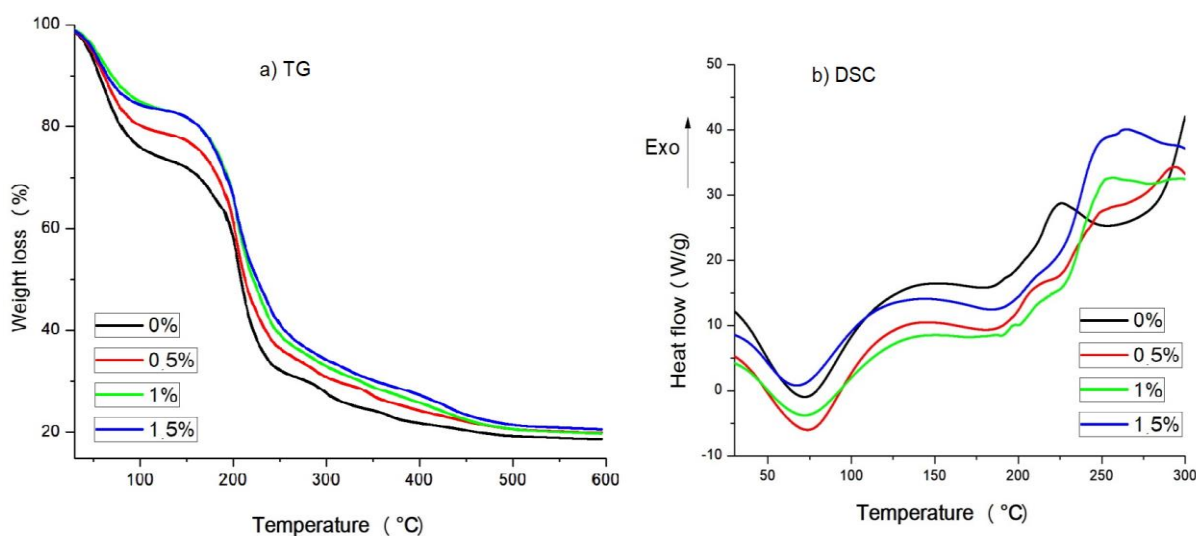


Figure 1. (a) Thermogravimetric (TG) and (b) differential scanning calorimetry (DSC) curves bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate.

3.2 Color parameters, mechanical proprieties, Water vapor permeability and Thickness

With the analysis of the color of the present films, it can be observed that the measure in which the concentrations of the CNSL in the films increased, the luminosity was reduced ($p < 0.05$), and increased the colors red, yellow, saturation and opacity rate, where the less luminous the films are, the opaquer they present themselves (Table 1). All those who have been enriched with CNSL tend to color towards red (positive values of parameter *a) and yellow, where, the greater the proportion of the liquid present, the more intense the tonality. However, for the saturation index or chroma, and the yellow color, the treatments 1.0% and 1.5% of CNSL inclusion did not present difference ($p > 0.05$).

It is observed that the permeability increased as the level of CNSL increased ($p < 0.05$), especially for the concentrations 1% and 1.5% CNSL, where, between both, there was no significant difference ($p > 0.05$). It was observed that the maximum tensile strength of the films decreased proportionally due to the addition of CNSL ($p < 0.05$), while their addition improved ($p < 0.05$) their elasticity. The elongation at break increased ($p < 0.05$) due to the addition and increase of the concentration of CNSL in the proportions of 1% and 1.5% in relation to 0% and 0.5% levels, which did not differ ($p > 0.05$), making them more flexible and with greater capacity of elongation of the films. Regarding film thickness, the inclusion of CNSL increased ($p < 0.05$) increased proportionally to the level of CNSL inclusion comparing to the treatment without inclusion.

Table 1. Coloration index and mechanical properties of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid into a matrix of sodium alginate.

Variables	Cashew nut shell liquid (%)			
	0	0.5	1.0	1.5
Coloration index				
Luminosity (L*)	91.59 ± 1.02 ^a	80.80 ± 1.10 ^b	65.83 ± 3.95 ^d	61.57 ± 2.02 ^c
Redness (a*)	-1.10 ± 0.14 ^d	1.61 ± 0.24 ^c	6.73 ± 0.67 ^b	9.34 ± 0.45 ^a
Yelowness (b*)	7.01 ± 0.96 ^c	16.9 ± 0.69 ^b	24.00 ± 0.61 ^a	24.03 ± 0.23 ^a
Chome (C*)	7.09 ± 0.97 ^c	17.07 ± 0.70 ^b	24.76 ± 0.63 ^a	25.75 ± 0.31 ^a
Opaciy	13.89 ± 0.34 ^d	15.84 ± 0.91 ^c	18.12 ± 0.75 ^b	20.10 ± 0.98 ^a
Mechanical properties				
Thickness (mm)	0.090 ± 0.02 ^b	0.133 ± 0.04 ^a	0.238 ± 0.04 ^a	0.263 ± 0.02 ^a
Traction resistance (MPa)	54.71 ± 0.20 ^a	41.54 ± 0.08 ^c	44.03 ± 0.07 ^b	36.58 ± 0.07 ^d
Elasticity (MPa)	95.75 ± 0.36 ^a	72.70 ± 0.14 ^c	77.04 ± 0.12 ^b	64.01 ± 0.13 ^d
Elongation (%)	42.26 ± 3.94 ^b	38.23 ± 2.94 ^b	49.78 ± 4.67 ^a	51.07 ± 1.88 ^a
Water vapor permeability	7.16 ± 0.30 ^c	9.11 ± 0.19 ^b	29.12 ± 7.11 ^a	31.02 ± 3.24 ^a

Mean ± standard deviation (n = 10)

^{abcd} Means followed by different lowercase letters differ by the Tukey test when < 0.05.

* (g/mm/m²/day/KPa)

3.3 Antimicrobial activity

The results described in Table 2, regarding the antimicrobial activity of the technical CNSL included in the films, showed that the CNSL presents antimicrobial characteristics for all the strains tested (*S. typhimurium*; *E. coli*; *P. aeruginosa*; *L. monocytogenes*; *B. cereus* and *S. aureus*), when compared with the control group.

Table 2. Antimicrobial activity of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate expressed as minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC).

Microorganisms strains	Cashew Nut Shell Liquid ($\mu\text{g/mL}$)		Azithromycin ($\mu\text{g/mL}$)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>S. typhimurium</i>	128	256	2	4
<i>E. coli</i>	512	nd	32	16
<i>P. aeruginosa</i>	128	256	8	16
<i>L. monocytogenes</i>	128	256	8	16
<i>B. cereus</i>	128	256	4	8
<i>S. aureus</i>	32	64	8	16

nd Not determined

When incorporated in the FS, it was observed that the CNSL presented antimicrobial activity as from the inclusion in 1% in the films, for the strains of *P. aeruginosa*; *L. monocytogenes*; *B. cereus* and *S. aureus*, with no antimicrobial activity for the strains of *S. typhimurium* and *E. coli*, as described in Table 3.

Table 3. Antimicrobial activity of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate in different concentrations using the Well Diffusion Agar method expressed as inhibition area diameter (mm).

Microorganisms	Filmogenic solutions (CNSL)				Controls	
	0%	0.5%	1.0%	1.5%	Azithromycin	Water
<i>S. typhimurium</i>	NI	NI	NI	NI	21.6 \pm 0.57	NI
<i>E. coli</i>	NI	NI	NI	NI	16.3 \pm 0.57	NI
<i>P. aeruginosa</i>	NI	NI	7.3 \pm 1.15 ^c	10.6 \pm 0.57 ^b	18.3 \pm 0.57 ^a	NI
<i>L. monocytogenes</i>	NI	NI	7.5 \pm 0.50 ^c	11.5 \pm 0.50 ^b	18.5 \pm 0.50 ^a	NI
<i>B. cereus</i>	NI	NI	6.5 \pm 0.50 ^b	7.6 \pm 0.5 ^b	18.6 \pm 0.57 ^a	NI
<i>S. aureus</i>	NI	NI	9.6 \pm 0.57 ^c	11.3 \pm 0.57 ^b	20.3 \pm 0.57 ^a	NI

Mean \pm standard deviation (n = 3)

^{abcd} Means followed by different lowercase letters differ by the Tukey test when < 0.05 .
 NI – No inhibition

3.4 Antioxidant activity

The CNSL showed potent antioxidant activity, when compared to the control treatments ($p < 0.05$), according to three different evaluation methods (Table 4).

Table 4. Antioxidant activity expressed as IC₅₀ (μg/mL) of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL)

Item	DPPH ⁺ IC ₅₀ (μg/mL)	ABTS ⁺ IC ₅₀ (μg/mL)	TAC ⁺ IC ₅₀ (μg/mL)
CNSL	132.89 ± 0.27 ^a	102.38 ± 0.31 ^b	1482.81 ± 0.44 ^b
Trolox	28.13 ± 0.11 ^b	153.67 ± 0.02 ^a	N.T.
Ascorbic acid	N.T.	N.T.	50000 ± 0.01 ^a

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo radical; ABTS: 2', 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) radical; TAC: Total Antioxidant Capacity; N.T.: Not tested.

Mean ± standard deviation (n = 3)

^{abcd} Means followed by different lowercase letters differ by the Tukey test when < 0.05 .

Regarding the antioxidant activity of CNSL-enriched alginate films, it is possible to see that the inclusion of oil has significantly increased ($p < 0.05$) the antioxidant activity of the films going from 0% to 45% the elimination capacity of DPPH with the inclusion of 0.5% CNSL and then reaching 71.4% in treatments 1.0 and 1.5% of CNSL inclusion, showing that as from 1.0% activity remained stable, with no difference between these two levels of inclusion (Figure 2).

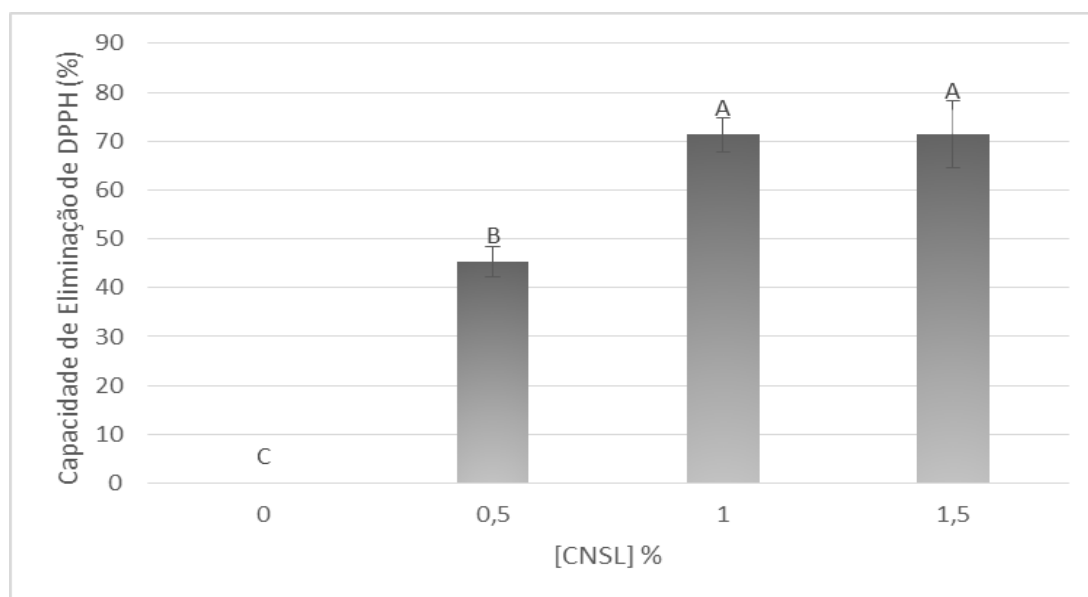


Figure 2. Antioxidant activity (elimination capacity of DPPH) of bioactive films obtained from the incorporation of Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) into a matrix of sodium alginate. Means \pm standard deviation followed by different lowercase letters differ by the Tukey at 5%. (DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo radical).

4. Discussion

In addition to the material for the production of the biodegradable films, several parameters need to be taken into consideration, such as their temperature/thermal stability (DAZA et al., 2018). The thermal degradation varies according to the composition of each film (CELISO et al., 2008). The improvement in thermal resistance observed in this study was related to the inclusion of CNSL in films which, due to its chemical structure, especially due to the presence of aromatic rings, its compounds have a high initial temperature of degradation. Furthermore, due to its typical characteristic of being highly resistant to flames, it has the capacity to improve the thermal resistance of other polymers, being an important characteristic for food films/packaging (MAZZETTO; LOMONACO, 2009; CHUAYJULJIT et al., 2007). Prasad and Pillai (1994) also observed that the high presence of cardanol, as a pre-polymer, improves the thermal stability of other polymers. This was also observed in the study by Menon et al. (1996), where it was assessed that the inclusion of CNSL improved the thermal stability of the natural polymer studied.

The coloring of the films is also an extremely important characteristic and can increase the chances of acceptance by consumers (NAWAB et al., 2017). The linear

increase of the red values (a^*) and consequently of the chroma (c^*) obtained in the enriched films, is due to the fact that the reddish brown coloration attributed to the CNSL during its polymerization process, a result of the presence of the cardol (WASSERMAN et al., 1948). The value of e^* (yellow) increased due to the increase of a^* , by adding a natural antioxidant, as happened in the study of Ruan et al. (2019). In addition, alginate films tend to be transparent with a bit of a yellowish/reddish tone, which is intensified with the incorporation of additives, depending on such (YANG et al., 2019).

The linear increase of the a^* and e^* indexes whilst the CNSL level was increased favored the increase of the opacity of the films and consequently the decrease of the luminosity, considering that as they get darker, their opacity increases (HOMEZ-JARA et al., 2018), which is positive from the point of view of food conservation, since opaque films are a barrier to avoid the passage of light and consequently the oxidative deterioration induced by it, when applied to food, thus helping in conservation to avoid loss of nutrients, discoloration, as well as unpleasant flavors to the food product (SOUZA et al., 2015). On the other hand, transparency is an important aspect from a commercial point of view, in view to propitiate a better presentation and visualization of the quality of the product (FERNANDES et al., 2015), being considered by Priyadarshi and Rhim (2020), a primordial characteristic from the point of view of food packaging, as, the ideal is that they present characteristics similar to synthetic polymers such as, among others, transparency, odorless and tasteless (SABERI et al., 2016). The increase of the opacity in films with incorporation of the oil, is due to the fact that the oil droplets are distributed throughout the polymeric matrix, providing the dispersion of light and consequently in the opacity of the films (DO EVANGELHO et al., 2019).

With regard to water vapor permeability, it was observed that this variable increased as the oil level increased. It is believed that this can be explained due to the structure of the films, with the presence of free cavities/spaces between the polymers, as these, present due to the addition of a hydrophobic substance, affecting the hydrophilic property of the films and allow the passage of water vapor (DO EVANGELHO et al., 2019). For food application purposes, the increase of this permeability is not interesting considering that the best films are those that present a low water vapor permeability (HOMEZ-JARA et al., 2018). This aspect is essential since it establishes the capacity of interaction between the films and water, providing the protection of foods against the

processes of dehydration or rehydration (SOUZA et al., 2015) and thus may reduce the deterioration of food and consequently increase its shelf time (LECETA et al., 2013).

Regarding the mechanical properties of the films, it was observed that the tensile strength decreased proportionally due to the addition of CNSL, as its addition increased the elasticity and elongation of the films. This can be explained by the fact that the addition of the CNSL, as a hydrophobic agent, to films, of hydrophilic nature, makes the film present itself with irregular structures, thus helping the formation of films with less chain mobility and as a consequence, less resistance to rupture (RUBILAR et al., 2013). However, the addition of the oil, in turn, increases the flexibility and mobility/elongation of the films (AHMED et al., 2016; HAN et al., 2017). The mechanical properties assume the durability of films and their ability to preserve the integrity of food during handling, transport and storage, so it is a primary aspect to be analyzed in biodegradable films (SHAHBAZI, 2017).

The increase in film thickness by the inclusion of CNSL is justified as the addition of oil has led to an increase in the solid content of the films, thus increasing their thickness, in relation to the 0% CNSL (RAMBABU et al., 2019). Thus, it is believed that the addition of a hydrophobic substance has become attached in the form of microparticles in the polymeric matrix, with a decrease in density and consequently an increase in thickness (LUÍS et al., 2019).

The improvement in the antimicrobial characteristics and, especially of antioxidant characteristics of the films was due to the incorporation of the CNSL, a dark reddish brown oil, considered one of the main natural sources of non-isoprenoid phenolic lipids (LOMANACO et al., 2017), and of a high quantity of cardanol, its the main (60 to 70%) and most promising component, with peculiar characteristics compared to other similar phenolics, such as antioxidant activity, hydrophobicity, non-toxic, flame resistance, low volatilization, higher boiling point, thermal stability (MAZZETTO; LOMONACO, 2009; JAYEOLA et al., 2018), besides presenting antibacterial properties against several species (BOONSAI et al., 2014; STASIUK; KOZUBEK, 2010), its antioxidant activity is not only that of cardanol, but also of cardol, where in a decreasing manner we have: cardanol, cardol and lastly, anacardic acid (CNSL *in natura*), respectively, with the aforementioned property (OLIVEIRA et al., 2011; VOIRIN et al., 2014).

Furthermore, the phenolic lipid compounds of long and unsaturated chain, with the presence of aromatic rings, present in the CNSL, also confer to it antioxidant properties (BALACHANDRAN et al., 2013), in which its unsaturation in the long side chain of cardanol can be a valuable factor in the capture of free radicals (RODRIGUES et al., 2006). This is because these substances still act as oxygen donors for the peroxy radical, making the free radical reaction impossible (BARREIROS et al., 2006). This characteristic is very important because by acting as free radicals eliminators and hydrogen donors, like most of the active compounds of natural antioxidants, there is the inhibition of the generation and propagation of reactive species and free radicals (KULISIC et al., 2004).

In the food industry, for conservation purposes, the phenolic compounds are used because of their antimicrobial and especially antioxidant properties, this because the biological effects of these compounds are attributed to the antioxidant properties, as well as the neutralization of free radicals as reactive oxygen species (AYALA-ZAVALA et al., 2011; GUINÉ et al., 2015; SOCRIER et al., 2018).

The greater efficiency of the application of antioxidant packaging concerns foods with high fat content, such as meat products (GANIARI et al., 2017), as it acts delaying the lipid oxidation, which is the main cause of food deterioration, especially the most perishable ones, and may directly affect their organoleptic qualities such as color, flavor, odor, among others (MILANI; SAHRAEE, 2015). The oxidative reactions are responsible for reducing the nutritional value of the foods, through the degradation of essential fatty acids, proteins and liposoluble vitamins, producing strange flavors and odors, as well as promoting the change of the food's color due to the degradation of the pigment (BASTARRACHEA et al., 2015; SANCHES-SILVA et al., 2014).

The antimicrobial activity of the films has proven to be less efficient when compared to those of the technical CNSL without incorporation, especially for the gram-negative bacteria such as *S. typhimurium* and *E. coli*, whilst all the Gram-positive bacteria obtained positive results. This is due to the fact that, in addition to being the most resistant bacteria among those tested, the phenolic compounds of the CNSL act more against the Gram-positive bacteria, as they are more susceptible to the antibacterial effects of the oils than the Gram-negative bacteria, seen as these have a double cellular layer which acts as a barrier, limiting the access of the hydrophobic compounds (KUBO et al., 1993; BURT, 2004). The antimicrobial activity of the CNSL

is attributed to its chemical structure and functional groups such as the number of terpenoids and of phenolic compounds and the interaction between these compounds (OSMARI et al., 2015), formed by a unilateral non-isoprenoid alkyl chain such as anacardic, cardol, methyl-cardol and cardanol acids (MUROI et al., 1993).

It was observed that the efficiency of the antimicrobial action of the CNSL in the films, only occurred as from its inclusion in 1%, which can be justified by the type of CNSL used (technical), bearing in mind that, even though the cardanol presents antimicrobial activity, its efficiency is considerably inferior to the anacardic acids, major component of the CNSL *in natura* (HIMEJIMA; KUBO, 1991), being proven, therefore, that the anacardic acid is the main responsible for most of its antimicrobial property (BRANCO et al., 2015), thus, a greater quantity of the compound is necessary, so that its activity in the films may be preserved, by means of the cardanol and cardol. Furthermore, there was also a saturation on the effectiveness at the level of 1%, as the level increased to 1.5% there was no greater effectiveness in the elimination or control of the microorganisms.

The films with antimicrobial activity release the active compounds when in contact with the surface of the food, assisting, especially, in the inhibition or delay of the bacterial proliferation (GUO et al., 2017). Natural oils, for having low molecular weight volatile aromatic mixtures, as for example the phenolic compounds, demonstrate high efficiency regarding the suppression of the microbial growth, therefore being important for use in perishable food packaging (MAISANABA et al., 2017).

5. Conclusions

The inclusion of CNSL in the production of biopolymeric films based on sodium alginate proved to be a great option to be used in the food industry for this purpose, especially due to its promising antioxidant activity, preserving itself after inclusion in biopolymeric films, and antimicrobial, evidenced by the inclusion of 1% of the CNSL, in addition, it is a great self-sustainable option, and can thus be used in the agrifood industry to replace non-degradable food packaging, while improving the quality and increasing the useful life of perishable food. Thus, it is recommended to use the film whose inclusion of CNSL was 1%, considering that it was the one that presented the best results in most of the analyzes, with a stabilization when compared to the 1.5%, due to the increase in saturation level.

References

- Ahmed, J. Mulla, M. Z., Arfat, Y. A (2016). Thermo-mechanical, structural characterization and antibacterial performance of solvent casted polylactide/cinnamon oil composite films – *Food Control*, 69:196-204. doi:10.1016/j.foodcont.2016.05.013
- Andrade, T. de J. A. dos S., Araújo, B. Q., Citó, A. M. das G. L., da Silva, J., Saffi, J., Richter, M. F., Ferraz, A. de B. F. (2011). Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). *Food Chemistry*, 126(3), 1044–1048. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.122
- ASTM- American Society for Testing and Material. (2016). ASTM D882- 12: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. West Conshohocken: ASTM.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J.E., González-Aguilar, G.A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7): 1866–1874. doi:10.1016/j.foodres.2011.02.021
- Balachandran, V. S., Jadhav, S. R., Vemula, P. K., John, G. (2013). Em poucas palavras, os avanços recentes na química do cardanol: de uma noz a nanomateriais. *Chem. Soc. Rev.*, 42 (2), 427–438. doi: 10.1039 / c2cs35344j
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29(1), 113–123. doi:10.1590/s0100-40422006000100021
- Bastarrachea, L. J., Wong, D. E., Roman, M. J., Lin, Z., Goddard, J. M. (2015). Active packaging coatings. *Coatings*, 5(4), 771–791. <https://doi.org/10.3390/coatings5040771>.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200. doi:10.1038/1811199a0
- Boccard, R., Buchter, L., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D. E., Joseph, R. L., McDougall, D. B., Touraille, C. (1981) Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Commission of the European Communities (CEC) Beef Production Research Programme. *Livestock Production Science* 8, 385–397

- Boonsai, P., Phuwapraisirisan, P., Chanchao, C. (2014). Antibacterial Activity of a Cardanol from Thai *Apis mellifera* Propolis. *International Journal of Medical Sciences*, 11(4), 327–336. doi:10.7150/ijms.7373
- Branco, A. F., Giallongo, F., Frederick, T., Weeks, H., Oh, J., & Hristov, A. N. (2015). Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 4030–4040. doi:10.3168/jds.2014-9015
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Celso, F., Mauler, R. S., Gomes, A. S. Estudo das Propriedades Térmicas de Filmes Poliméricos Compostos de Speck, Derivados do Benzoimidazol e Ácido Fosfotúngstico (2008). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 18(2):178-186. doi: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282008000200016>
- Chuayjuljit, S., Rattanametangkool, P., & Potiyaraj, P. (2007). Preparation of cardanol–formaldehyde resins from cashew nut shell liquid for the reinforcement of natural rubber. *Journal of Applied Polymer Science*, 104(3), 1997–2002. doi:10.1002/app.25915
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28 th. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2018.
- Costa, M.J., Marques, A.M., Pastrana, L.M., Teixeira, J.A., Sillankorva, S.M., Cerqueira, M.A. (2018). Physicochemical properties of alginate-based films: effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocolloids* 81, 442–448. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014>
- Daza, L. D., Homez-Jara, A., Solanilla, J. F., Váquiro, H. A. (2018). Effects of temperature, starch concentration, and plasticizer concentration on the physical properties of ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas)-based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.09.211
- Do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., el Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., ... da Rosa Zavareze, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114981. doi:10.1016/j.carbpol.2019.114981

- Fernandes, A. P. S., Costa, J. B., Soares, D. S. B., Moura, C. J. de, Souza, A. R. M. de. (2015). Aplicação de filmes biodegradáveis produzidos a partir de concentrado proteico de soro de leite irradiado. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 45(2), 192–199. doi:10.1590/1983-40632015v4530844
- Ganiari, S., Choulitoudi, E., Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.009>.
- Guiné, R. P. F., Barroca, M. J., Gonçalves, F. J., Alves, M., Oliveira, S., Mendes, M. (2015). Artificial neural network modelling of the antioxidant activity and phenolic compounds of bananas submitted to different drying treatments. *Food Chemistry*, 168, 454–459. doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.094
- Guo, M., Yadav, M. P., Jin, T. Z. (2017). Antimicrobial edible coatings and films from micro-emulsions and their food applications. *International Journal of Food Microbiology*, 263, 9–16. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.002
- Han, Y., Yu, M., Wang, L. (2018). Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 35–42. doi:10.1016/j.fpsl.2017.11.001
- Himejima, M., Kubo, I. (1991). Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(2), 418–421. doi:10.1021/jf00002a039
- Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Váquiro, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 1233–1240. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057
- Jayeola, C. O., Adebowale, B. A., Yahaya, L. E., Ogunwolu, S. O., & Olubamiwa, O. (2018). Production of Bioactive Compounds From Waste. *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, 317–340. doi:10.1016/b978-0-12-814625-5.00017-0
- Kaza, Silpa; Yao, Lisa C.; Bhada-Tata, Perinaz; Van Woerden, Frank. (2018). What a Waste 2.0 : A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. Urban Development;. Washington, DC: World Bank. © World Bank. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/30317> License: CC BY 3.0 IGO

- Kenawi, M. A., Abdel-Salam, R. R. (2011). Effect of two natural antioxidants in combination with edible packaging on stability of low fat beef product stored under frozen condition. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27(3), 345–356. doi: 10.2298/BAH1103345K
- Kobayashi, Y., Oh, S., Myint, H., Koike, S. (2016). Use of Asian selected agricultural by products to modulate rumen microbes and fermentation. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7, 70. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0126-4>.
- Kubo, I., Muroi, H., Himejima, M., Yamagiwa, Y., Mera, H., Tokushima, K., Ohta, S. & Kamikawa, T. (1993). Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1016-1019. doi:10.1021/jf00030a036
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024>
- Leceta, I., Guerrero, P., & Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers*, 93, 339–346. doi:10.1016/j.carbpol.2012.04.031
- Lomonaco, D., Mele, G., Mazzetto, S. E. (2017). Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. *Cashew Nut Shell Liquid*, 19–38. doi:10.1007/978-3-319-47455-7_2
- Lopes, A.A.S., Carneiro, E.A., Rios, M.A.S., Filho, J.J.H., Carioca, J.O.B., Barros, G.G., Mazzetto, S.E. (2008). Study of antioxidant property of a thiophosphorated compound derived from cashew nut shell liquid in hydrogenated naphthenics oils. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 25, 119–127. doi:<https://doi.org/10.1590/S0104-66322008000100013>.
- Luis, Â., Pereira, L., Domingues, F., & Ramos, A. (2019). Development of a carboxymethyl xylan film containing licorice essential oil with antioxidant properties to inhibit the growth of foodborne pathogens. *LWT. Food Science and Technology*, 111, 218–225. doi:10.1016/j.lwt.2019.05.040
- Maisanaba, S., Llana-Ruiz-Cabello, M., Gutiérrez-Praena, D., Pichardo, S., Puerto, M., Prieto, A. I., et al. (2017). New advances in active packaging incorporated with essential oils or their main components for food preservation. *Food Reviews International*, 33(5), 447–515. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175010>.

- Mazzetto, S. E., Lomonaco, D., Mele, G. (2009). Óleo da castanha de caju oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32, p. 732–741 (2009). doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>.
- Menon, A. R. R., Pillai, C. K. S., Nando, G. B. (1996). Thermal degradation characteristics of natural rubber vulcanizates modified with phosphorylated cashew nut shell liquid. *Polymer Degradation and Stability*, 52(3), 265–271. doi:10.1016/0141-3910(96)00007-9
- Milani, J., Sahraee, S. (2015). Functional Edible Coatings and Films for Fresh Cut Food Products. *Advances in Food Sciences*, 37(2).
- Miltenburg, G. A., Wensing, T., Smulders, F. J. M., & Breukink, H. J. (1992). Relationship between blood hemoglobin, plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *Journal of Animal Science*, 70, 2766–2772.
- Mohamed, S. A. A.; El-Sakhawy, M.; El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid- Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 116178. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116178
- Muroi, H.; Kubo, A.; Kubo, I (1993). Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 41(7):1106-1109. doi:10.1021/jf00031a018
- Nawab, A., Alam, F., Haq, M. A., Lutfi, Z., Hasnain, A. (2017). Mango kernel starch-gum composite films: Physical, mechanical and barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 869–876. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.02.054
- Oliveira, M. S. C., Morais, S. M. de, Magalhães, D. V., Batista, W. P., Vieira, Í. G. P., Craveiro, A. A., ... de Lima, G. P. G. (2011). Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Tropica*, 117(3), 165–170. doi:10.1016/j.actatropica.2010.08.003
- Osmari, M. P., Matos, L. F., Salab, B. L., Diaz, T. G., GIOTTO, F. M (2015). Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. *Publicações em medicina veterinária e zootecnia*, 9(3): 143-149.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006). Antimicrobial Effects of Alginate-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of

- Whole Beef Muscle. *Journal of Food Protection*, 69(10), 2364–2369. doi:10.4315/0362-028x-69.10.2364
- Pietro, M. G., Minelli, M. (2020). Test methods for the characterization of gas and vapor permeability in polymers for food packaging application: A review. *Polymer Testing*, 106606. doi:10.1016/j.polymertesting.2020.106606
- Prasad. V. S., Pillai, C. K. S.. (1994). In *Polwtzer Science-Recent Advances*. Vol. 2, ed. I. S. Bhardwaj. Allied Publ. Ltd.. New Delhi.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 269: 337-341.
- Priyadarshi, R., Rhim, J.-W. (2020). Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 102346. doi:10.1016/j.ifset.2020.102346
- Rambabu, K., Bharath, G., Banat, F., Show, P. L., Cocolletzi, H. H. (2018). Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.196
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231–1237. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Rodrigues F, M. G., Souza, A. G., Santos, I. M. G., Bicudo, T. C., Silva, M. C. D., Sinfrônio, F. S. M., Vasconcelos, A. F. F. (2009). Antioxidative properties of hydrogenated cardanol for cotton biodiesel by PDSC and UV/VIS. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 97(2), 605–609. doi:10.1007/s10973-008-9600-3
- Rodrigues, F. H. A., Feitosa, J. P. A., Ricardo, N. M. P. S., França, F. C. F. de, & Carioca, J. O. B. (2006). Antioxidant activity of cashew nut shell liquid (CNSL) derivatives on the thermal oxidation of synthetic cis-1,4-polyisoprene. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(2), 265–271. doi:10.1590/s0103-50532006000200008

- Ruan, C., Zhang, Y., Wang, J., Sun, Y., Gao, X., Xiong, G., & Liang, J. (2019). Preparation and antioxidant activity of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible films with epigallocatechin gallate. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.143
- Rubilar, J. F., Cruz, R.M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., & Vieira, M. C. (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115, 466–474. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.07.009
- Saberi, B., Thakur, R., Vuong, Q. V., Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Scarlett, C.E (2016). Stathopoulos, Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. *Industrial Crops and Products* 86, 342-352. doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.015
- Sanches-Silva, A., Costa, D., Albuquerque, T. G., Buonocore, G. G., Ramos, F., Castilho, M. C., ... Costa, H. S. (2014). Trends in the use of natural antioxidants in active food packaging: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(3), 374–395. doi:10.1080/19440049.2013.879215
- Shahbazi, Y. (2017). The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and Ziziphora clinopodioides essential oil as biodegradable materials for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 746–753. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.065
- Socrier, L., Quéro, A., Verdu, M., Song, Y., Molinié, R., Mathiron, D., ... Morandat, S. (2018). Flax phenolic compounds as inhibitors of lipid oxidation: elucidation of their mechanisms of action. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.126
- Song Y., Liu L., Shen H., You J., Luo Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control* 22 (3–4), 608–615. doi:10.1016/j.foodcont.2010.10.012
- Souza, M. P., Vaz, A. F. M., Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., & Carneiro-da-Cunha, M. G. (2015). Development and Characterization of an Active Chitosan-Based Film Containing Quercetin. *Food and Bioprocess Technology*, 8(11), 2183–2191. doi:10.1007/s11947-015-1580-2

- Stasiuk, M., & Kozubek, A. (2009). Biological activity of phenolic lipids. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(6), 841–860. doi:10.1007/s00018-009-0193-1
- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137, 360–374. doi:10.1016/j.carbpol.2015.10.074
- Umaraw, P., Munekata, P. E. S., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., & Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science & Technology*. doi:10.1016/j.tifs.2020.01.032
- Voirin, C., S. Caillol, N. V. Sadavarte, B. V. Tawade, B. Boutevinab, and P. P. Wadgaonkar. (2014). Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. *Polymer Chemistry*. 5:3142–3162. doi:10.1039/c3py01194a
- Wasserman, D.; Dawson, C. R. Cashew nut shell liquid. III. (1948). The cardol component of Indian cashew nut shell liquid with reference to the liquid s vesicant activity. *Journal of the American Chemical Society*, 70, 3675-3679.
- Yang, M., Wang, L., Xia, Y. (2019). Ammonium persulphate induced synthesis of polymethyl methacrylate grafted sodium alginate composite films with high strength for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1238–1245. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.012
- Zactiti, E. M., Kieckbusch, T. G. (2006). Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 462–467. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.07.015 / Pedido de Privilégio de Patente. INPI, Prot. 01850064015 - 12/2005.

Capítulo II

Revestimento bioativo à base de alginato de sódio e enriquecido com líquido da casca da castanha de Caju (LCC) para preservação de carne bovina

O artigo será submetido a: Ciência e tecnologia de alimentos, ISSN: 1678-457X

Fator de Impacto: 0,46

Qualis Capes: B1

Revestimento bioativo à base de alginato de sódio e enriquecido com líquido da casca da castanha de caju (LCC) para preservação de carne bovina

Bioactive coating sodium alginate-based and enriched with cashew nut shell liquid (CNSL) for preservation the beef

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito do revestimento à base de alginato de sódio e LCC na preservação de carne bovina. O delineamento foi inteiramente casualizado utilizando três tratamentos (controle, 0% e 1% de inclusão de LCC) e três repetições, com realização de análises em intervalo de três tempos (0, 3 e 6), a partir das propriedades físico-químicas, oxidação lipídica e análises microbiológicas relativas à contagem total de mesófilos e psicrófilos do músculo *Longissimus dorsi*. Observou-se que, ao longo do tempo de armazenamento, não obteve-se diferença estatística ($p > 0,05$) para as coordenadas de L^* , a^* e b^* . O pH das amostras controle aumentaram significativamente ($p < 0,05$), porém as amostras envolvidas com revestimento enriquecido de LCC mantiveram pH estável. A CRA não demonstrou diferença significativa ($p > 0,05$). A PPC evidenciou que o revestimento enriquecido com LCC foi capaz de melhorar a perda pós cocção no terceiro dia de armazenamento. A FC reduziu significativamente ($p < 0,05$), porém o revestimento com inclusão de LCC obteve as menores reduções. Neste tratamento, também observou-se diminuição da oxidação lipídica e menor crescimento microbiano de mesófilos. Assim, a inclusão de 1% de LCC na formulação de filmes biodegradáveis a base de alginato apresentou características promissoras para preservação de alimentos perecíveis, podendo vir a ser utilizado em substituição as embalagens convencionais garantindo melhoria da qualidade e aumento da vida útil dos alimentos.

Palavras chaves: *Anacardium occidentale*; oxidação lipídica; revestimento biopolimérico; tempo de prateleira.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the coating based on sodium alginate and CNSL on the preservation of beef. The design was completely randomized using three treatments (control, 0% and 1% of inclusion of CNSL) and three repetitions, with analyzes in three-time intervals (0, 3 and 6), based on the physical-chemical properties, lipid oxidation and microbiological analyzes related to the total mesophilic and psychrophilic count of the *Longissimus dorsi* muscle. It was observed that, over the storage time, there was no statistical difference ($p > 0.05$) for the coordinates of L^* , a^* and b^* . The pH of the control samples increased significantly ($p < 0.05$), but the samples involved with an enriched CNSL coating maintained a stable pH. The CRA showed no significant difference ($p > 0.05$). PPC showed that the coating enriched with CNSL was able to improve the loss after cooking on the third day of storage. The HR decreased significantly ($p < 0.05$), however the coating with inclusion of CNSL obtained the smallest reductions. In this treatment, there was also a decrease in lipid oxidation and less microbial growth of mesophiles. Thus, the inclusion of 1% CNSL in the formulation of biodegradable films based on alginate presented promising characteristics for

preserving perishable foods, and may be used instead of conventional packaging, guaranteeing an improvement in the quality and increase of the shelf life of the food.

Keywords: *Anacardium occidentale*; lipid oxidation; biopolymeric coating; shelf time.

1. Introdução

A carne é um importante componente alimentar na dieta humana presente desde sua origem até os tempos modernos por ser rica em proteína de alto valor biológico, aminoácidos essenciais, vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, cobalamina e outras do grupo B, e minerais como o zinco, além de ser uma boa fonte de ácidos graxos essenciais, desempenhando importante papel na saúde, economia e cultura em todo o mundo. (LORENZO, 2013; LORENZO; PATEIRO, 2013; SHARMA et al., 2013). Entretanto, a carne fresca, sob refrigeração a 4°C, tem uma vida útil curta, em torno de 3-5 dias (EUA, 2019).

Os alimentos perecíveis, como a carne, são muito mais susceptíveis a deterioração, mediante a oxidação dos lipídios e proteínas, bem como deterioração microbiana devido suas características intrínsecas, tais como umidade e pH, tanto quanto fatores extrínsecos, a exemplo das condições de embalagem, materiais e armazenamento, onde, estendendo a influência de cada um desses fatores, é possível prolongar a vida útil dos alimentos (ÖZOGUL et al. 2017; LORENZO et al., 2018; BRASIL, 2018).

Ao mesmo tempo, o interesse e a demanda da sociedade pelo uso de recursos naturais, biodegradáveis e renováveis aumentaram nos últimos anos (YUN et al., 2019). Além disso, produtores e consumidores de alimentos aprimoraram seus requisitos para a qualidade dos alimentos processados, particularmente no campo do aumento do prazo de validade, preservando as propriedades organolépticas e nutricionais (SHEMESH et al., 2015; BATTISTI et al., 2017).

Nesse sentido, os filmes biopoliméricos são alternativas promissoras para auxiliar no aumento da vida útil de alimentos perecíveis. Segundo Beristain-Bauza et al. (2017), os polímeros mais utilizados como matéria prima com a finalidade de embalagem de alimentos são os polissacarídeos. Infelizmente, as propriedades mecânicas e de barreiras dos filmes a base desse polímero ainda são inferiores à do plástico sintético, por isso, os esforços estão focados em procurar a combinação perfeita de materiais de forma a melhorar suas características. Uma excelente forma de aumentar a propriedade funcional de filmes de polissacarídeos, é adicionando aditivos

alimentares, como os óleos funcionais, que visam melhorar suas propriedades e a dos produtos alimentares finais com os quais os filmes são utilizados, acreditando-se que em um futuro próximo os filmes biopoliméricos serão uma ótima opção como substituição dos plásticos sintéticos (CAZON et al., 2017). Assim, a adição de agentes funcionais que podem minimizar ou até interromper os processos deteriorativos nas embalagens como os filmes poliméricos, surgiu como uma abordagem promissora para a preservação de carne e seus derivados.

Nesse sentido, o líquido da casca da castanha do caju (LCC) surge como um óleo funcional, subproduto do caju (*Anacardium Occidentale* L.), uma das espécies mais conhecidas pertencentes a família Anacardiaceae. Trata-se de um líquido viscoso, escuro e fonte natural de compostos fenóis de cadeia longa insaturada, apresentando grande propriedade antioxidante, especialmente devido ao alto teor de cardanol presente no LCC técnico (KUBO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; LOMONACO et al., 2009), exibindo assim, características imprescindíveis para ser utilizado como aditivo na produção de filmes que visem retardar o processo de oxidação lipídica e consequentemente aumentar a vida útil dos alimentos, isso porque, os agentes ativos incorporados definem a funcionalidade dos materiais de embalagem (TOPUZ; UYAR, 2019).

Dessa forma, levando em consideração a importância de pesquisar alternativas que busquem melhores tecnologias biodegradáveis, visando aumentar a vida útil de alimentos perecíveis e amplamente consumidos pelos indivíduos como a carne bovina, ao passo que promovam menor impacto ambiental e melhor qualidade alimentar ao consumidor final, objetivou-se avaliar o efeito do revestimento à base de alginato de sódio e LCC no tempo de vida útil de carne bovina.

2. Material e Métodos

2.1 Obtenção, manuseio e aplicação dos filmes adicionados de LCC

Para revestimento dos filmes, as amostras de carne foram provenientes do músculo bovino *longissimus dorsi*, adquirida em frigorífico comercial localizado na cidade de Patos-PB, periodicamente fiscalizado e dentro dos padrões higiênicos sanitários adequados, segundo o manual de regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação (BRASIL, 2004).

A solução filmogênica (SF) à base de alginato de sódio foi preparada de acordo com metodologias adaptadas de Oussalah et al. (2006) e Zactiti e Kieckbusch (2005), onde inicialmente foi preparada solução de alginato de sódio na concentração de 3% (m/v). Posteriormente, foram adicionados à solução de alginato de sódio glicerol e Tween 80, em concentrações de 2 e 0,5% (m/v, com base na massa de solução de alginato). Em seguida, a mistura foi aquecida a 70 °C em chapa aquecedora e agitada com bastão de vidro por 1 h para total homogeneização da solução SF. Então, o LCC técnico foi adicionado à SF para os respectivos níveis de inclusão: 0 e 1,0 (m/m, com base na massa de SF), permanecendo sob agitação manual (bastão de vidro) por 20 min, até total homogeneização. O LCC técnico utilizado no estudo foi gentilmente cedido pela empresa Amêndoas do Brasil LTDA, Fortaleza, Ceará, Brasil, contendo 84,4% de cardanol e 15,6% de cardol.

Posteriormente, pedaços de carne uniformes, contendo 10 × 6 × 2 cm e aproximadamente 100 gramas, foram imersos nas SF durante 2 minutos e, em seguida, secos com fluxo de ar, de modo que, após a secagem, ocorresse a formação do filme diretamente na superfície do alimento. As amostras controles (sem revestimento) utilizadas para fins comparativos, também foram sucessivamente imersos em água destilada com o mesmo pH das soluções aplicadas aos grupos testes e com o mesmo tempo de duração de imersão. Em seguida, todas as amostras foram armazenadas a 4°C até a realização das análises durante 6 dias, em 3 intervalos de tempo: 0, 3, 6, conforme metodologia adaptada do estudo de Jridi et al. (2018), para avaliar o tempo de prateleira da carne. Nesse período, foram realizadas análises físico-químicas e oxidação lipídica, no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) e análises microbiológicas, no Laboratório de Inspeção de Tecnologia de Carne e Derivados, ambos localizados na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Patos-PB.

2.2 Análise físico-química de carnes após aplicação dos revestimentos

2.2.1 Coordenadas de cor das amostras

Para avaliar a coloração, foi realizada padronização dos cortes das carnes em uma espessura de 2,0 cm, seguida de exposição ao ar por 30 minutos em ambiente refrigerado para que então fosse realizada as leituras com auxílio de um colorímetro (KONICA MINOLTA, modelo CR-400), operando no sistema CIELAB (L*,a*,b*), sendo L* a luminosidade, variável do preto (0%) ao branco (100%); a* a intensidade da

cor vermelha, variável do verde(-a) ao vermelho (+a); e b* a intensidade da cor amarela, variável do azul (-b) ao amarelo (+b), sendo realizadas três medições em diferentes pontos do músculo, em triplicata, totalizando nove leituras para cada tratamento, utilizando-se os valores médios para representação da coloração (MILTENBURG et al., 1992).

2.2.2 pH

Foram realizadas as medições de pH, por meio de pHmetro digital manual com eletrodo de penetração modelo *Testo 205*[®], inserindo no músculo de acordo com AOAC (2000).

2.2.3 Capacidade de retenção de água (CRA)

A CRA foi determinada mediante a adição de amostras, em triplicata, da carne bovina, com aproximadamente 300 mg em papel filtro previamente pesado (P1), e prensadas por cinco minutos utilizando-se um peso de 3,4 kg. Após a prensagem, as amostras de músculo foram removidas e o papel foi novamente pesado (P2). Calculou-se a capacidade de retenção de água com auxílio da seguinte fórmula: $CRA(\%) = (P2 - P1)/S \times 100$, em que “S” representa o peso da amostra, segundo método proposto por Sierra (1973).

2.2.4 Perda de peso por cocção

As amostras foram assadas em forno pré-aquecido a temperatura de 200°C, até atingir 70°C no centro geométrico, sendo a temperatura monitorada através de termômetro especializado para cocção de carne (Acurite[®]), em triplicata. As perdas durante a cocção foram calculadas pela diferença de peso das amostras antes e depois da cocção e expressas em porcentagem (DUCKETT et al. 1998).

2.2.5 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento foi obtida mediante as amostras cozidas remanescentes do procedimento de determinação de perdas na cocção, onde foram retiradas três amostras cilíndricas de cada amostra, em triplicata, totalizando nove leituras de cada tratamento, com auxílio de um vazador de 1,27 cm de diâmetro, no sentido longitudinal da fibra. A força necessária para cortar transversalmente cada cilindro foi medida com

equipamento *Warner-Bratzler Shear Force* (G-R MANUFACTURING CO., Modelo 3000) com célula de carga de 25 kgf e velocidade de 20 cm/min. A média das forças de cisalhamento de cada cilindro foi utilizada para representar o valor da dureza de cada amostra (WHEELER et al., 1995).

2.2.6 Teor de ferro heme

O conteúdo total de ferro heme foi determinado como descrito anteriormente no estudo de Jridi et al. (2018), onde 2 gramas de cada amostra de carne, em triplicata, foi homogeneizada com 9 mL de acetona acidificada (90% de acetona, 8% de água deionizada, 2% de HCl). Então, o homogenato foi colocado por 1 h a 25 ° C no escuro e posteriormente centrifugadas por 10 minutos. A absorbância do filtrado foi determinada a 640 nm. A quantidade de ferro heme foi expresso em µg/g de carne e calculada utilizando a seguinte equação: Ferro heme= $A_{640} \times 680 \times 0,0882$.

2.3 Análise microbiológica de carnes após aplicação dos revestimentos

As amostras (em triplicata) com 25 g de cada tratamentos de carne revestidas com diferentes níveis de LCC, bem como da amostra controle, foram recolhidas em frascos esterilizados contendo 225 mL de diluente de máxima recuperação [0,1% (p/v) de peptona em solução de NaCl 0,9% (p/v)], e em seguida homogeneizadas por 5 minutos, em cada tempo de prateleira proposto (0, 3 e 6). Em ambiente estéril, foram efetuadas diluições de 10^{-1} a 10^{-5} utilizando o diluente de máxima recuperação. Um mililitro de cada diluição foi adicionado em placas de Petri esterilizadas, adicionando-se em seguida aproximadamente 15 mL do meio de cultura Plate Count Agar a 40 °C. As placas foram agitadas cuidadosamente e incubadas a 30°C e a 4°C durante 3 dias e 7 dias, respectivamente, para a contagem de microrganismos mesófilos e psicrófilos, segundo preconiza as resoluções nº 12/2001 e nº 331/2019 (BRASIL, 2001; BRASIL, 2019).

2.4 Oxidação lipídica de carnes após aplicação dos filmes adicionado de LCC

O indicador de oxidação lipídica foi realizado a partir das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme metodologia de Witte, Krause e Bailey (1970), em que o valor das substâncias que reagem a TBA (TBARS) foi calculada utilizando uma curva padrão de malonaldeído (MDA). Para isso, cinco gramas de carne de cada

amostras (triplicata) foram misturadas com 20 mL de ácido tricloroacético (5%), homogeneizados por 5 minutos e centrifugado a 12.000 g por 10 minutos. Em seguida 4 mL do sobrenadante foi misturado com 4mL de TBA 0,02M e incubado em banho-maria a 100°C por 60 minutos. A absorbância foi medida a 532 nm e os resultados expressos em mmoles de MDA/g de carne.

2.5 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão. As médias dos grupos foram comparadas usando análise de variância unidirecional (ANOVA) seguido de Tukey utilizando o Software GraphPad Prisma. Os dados estatísticos foram considerados significativos com $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1 Cor das amostras

Com a análise de cor das amostras, foi possível observar que, ao longo do tempo de armazenamento, não obteve-se diferença estatística ($p > 0,05$) para as coordenadas de L* (luminosidade) e +a* (vermelho) e +b* (amarelo), embora para as amostras controle, obteve-se diminuição significativa ($p < 0,05$) da coloração amarela (+b*), especialmente no dia 3, em relação ao dia 0 (tabela 1).

Tabela 1. Coordenada de cor e opacidade de carne bovina revestida com filmes bioativos a base de alginato de sódio e enriquecidos com LCC em diferentes tempos de armazenamento.

Índice de coloração	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)		
		0	3	6
L*	Controle	35,85 ± 1,29 ^{aA}	36,83 ± 1,29 ^{aA}	35,23 ± 0,94 ^{aA}
	0% LCC	35,45 ± 0,67 ^{aA}	34,39 ± 0,96 ^{aB}	36,08 ± 1,29 ^{aA}
	1% LCC	35,26 ± 1,75 ^{aA}	35,73 ± 1,67 ^{aA}	34,10 ± 1,30 ^{aB}
a*	Controle	18,90 ± 0,63 ^{aA}	13,56 ± 1,93 ^{bA}	15,16 ± 1,46 ^{bA}
	0% LCC	18,56 ± 1,16 ^{aA}	14,09 ± 0,55 ^{bA}	16,38 ± 1,32 ^{bA}
	1% LCC	18,10 ± 1,34 ^{aA}	14,99 ± 2,28 ^{bA}	15,44 ± 2,3 ^{bA}
b*	Controle	2,63 ± 0,74 ^{aA}	1,33 ± 0,35 ^{bA}	1,66 ± 0,30 ^{bA}
	0% LCC	1,93 ± 0,50 ^{aA}	1,27 ± 0,62 ^{aA}	1,89 ± 0,35 ^{aA}
	1% LCC	2,45 ± 1,42 ^{aA}	1,76 ± 0,79 ^{aA}	1,70 ± 0,80 ^{aA}

Valores descritos em média ± desvio padrão (n = 3)

Letras minúsculas diferentes nas linhas diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

Letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

3.2 Parâmetros instrumentais de qualidade da carne

Os valores de pH das amostras controle aumentaram significativamente entre si ($p < 0,05$) ao longo dos tempos de armazenamento analisados, ao passo que as amostras revestidas com base filmogênica enriquecida com LCC mantiveram-se estável durante o período de armazenamento, bem como dentro dos padrões consideráveis normais para carne saudável (Tabela 2).

A Capacidade de Retenção de Água (CRA) não demonstrou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o período de armazenamento, bem como entre as amostras analisadas. Ao avaliar a PPC, observa-se que ao longo dos dias, as amostras controle obtiveram as maiores perdas ($p < 0,05$), ao passo que as amostras envolvidas com revestimento enriquecido de LCC demonstraram melhora da perda pós cocção até o terceiro dia de armazenamento, havendo aumento significativo ($p < 0,05$) a partir do dia 6 (Tabela 2).

Os dados relativos a força de cisalhamento (FC) evidenciam que ao longo do período de armazenamento o referido parâmetro reduziu significativamente ($p < 0,05$), porém observa-se que nas amostras revestidas com filmes, especialmente o

revestimento enriquecido com LCC, essa redução foi menor, principalmente nos últimos tempos de prateleira (3 e 6), caracterizando-o como um fator protetivo e estabilizante à degradação das amostras (Tabela 2).

A quantificação de teor de ferro heme presente nas amostras evidenciou que o revestimento bioativo enriquecido com LCC fez com que houvesse uma diminuição gradativa da quantidade de Fe ao passo que nas amostras controle ocorreu o inverso (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros instrumentais de pH, CRA, FC, PPC e TF de amostras de carne bovina revestidas com filmes bioativos a base de alginato e enriquecidos com LCC realizadas em diferentes tempos de armazenamento (4°C).

Parâmetro	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)		
		0	3	6
pH	Controle	5,59 ± 0,03 ^{bAB}	5,78 ± 0,06 ^{aA}	5,84 ± 0,07 ^{aA}
	0% LCC	5,65 ± 0,02 ^{aA}	5,79 ± 0,07 ^{aA}	5,70 ± 0,02 ^{aA}
	1% LCC	5,77 ± 0,08 ^{aA}	5,71 ± 0,03 ^{aA}	5,71 ± 0,05 ^{aA}
CRA (%)	Controle	28,53 ± 6,28 ^{aA}	27,53 ± 3,42 ^{aA}	31,38 ± 3,95 ^{aA}
	0% LCC	25,70 ± 0,82 ^{aA}	27,38 ± 2,49 ^{aA}	22,76 ± 6,06 ^{aA}
	1% LCC	26,09 ± 1,54 ^{aA}	19,81 ± 2,17 ^{aA}	28,46 ± 4,65 ^{aA}
PPC (%)	Controle	18,66 ± 1,21 ^{aA}	28,08 ± 4,73 ^{bB}	37,54 ± 2,95 ^{cA}
	0% LCC	32,94 ± 3,25 ^{aB}	30,10 ± 5,61 ^{aB}	35,51 ± 2,98 ^{aA}
	1% LCC	31,74 ± 2,91 ^{aB}	24,17 ± 1,34 ^{aA}	37,63 ± 3,85 ^{bA}
FC (kgf/cm ²)	Controle	2,48 ± 0,10 ^{aA}	0,56 ± 0,08 ^{bB}	0,54 ± 0,05 ^{bB}
	0% LCC	2,05 ± 0,21 ^{aB}	0,59 ± 0,12 ^{bB}	0,84 ± 0,11 ^{bA}
	1% LCC	2,25 ± 0,08 ^{aAB}	1,08 ± 0,18 ^{bA}	0,86 ± 0,14 ^{bA}
TF (µg/g)	Controle	15,96 ± 0,10 ^{aB}	19,65 ± 0,26 ^{aB}	22,61 ± 0,50 ^{bC}
	0% LCC	15,77 ± 0,58 ^{aA}	17,07 ± 0,23 ^{bA}	15,50 ± 0,31 ^{aA}

1% LCC	20,48± 0,19 ^{bc}	19,07 ± 0,52 ^{aB}	16,19 ± 0,40 ^{aB}
--------	---------------------------	----------------------------	----------------------------

Valores descritos em média ± desvio padrão (n = 3)

Letras minúsculas diferentes nas linhas diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

Letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

CRA – Capacidade de retenção de água; FC- Força de cisalhamento; PPC- Perda de peso por cocção; TF- Teor de Ferro

3.3 Oxidação lipídica

Mediante análise da oxidação lipídica, avaliada através da mensuração dos valores de TBARS, evidencia-se um aumento significativo ($p < 0,05$) dos valores de malonoaldeído nas amostras controle em relação ao revestimento bioativo enriquecido com LCC, que apresentou-se como o tratamento com menor aumento no processo de oxidação durante os tempos analisados, além disso, a partir do sexto dia, observa-se uma estabilidade no ranço oxidativo durante o tempo de armazenamento em comparação as amostra sem revestimento, bem como em relação ao revestimento sem adição do LCC.

Avaliando as amostras segundo cada tratamento, observa-se que no tempo 0 o revestimento à base de LCC obteve os valores mais altos de peroxidação, acreditando -se que isso se deva ao fato de que o LCC inicialmente reage, mesmo que em pequena proporção com TBA, conforme constatado em análise laboratorial, para fins de respostas relativo a este resultado.

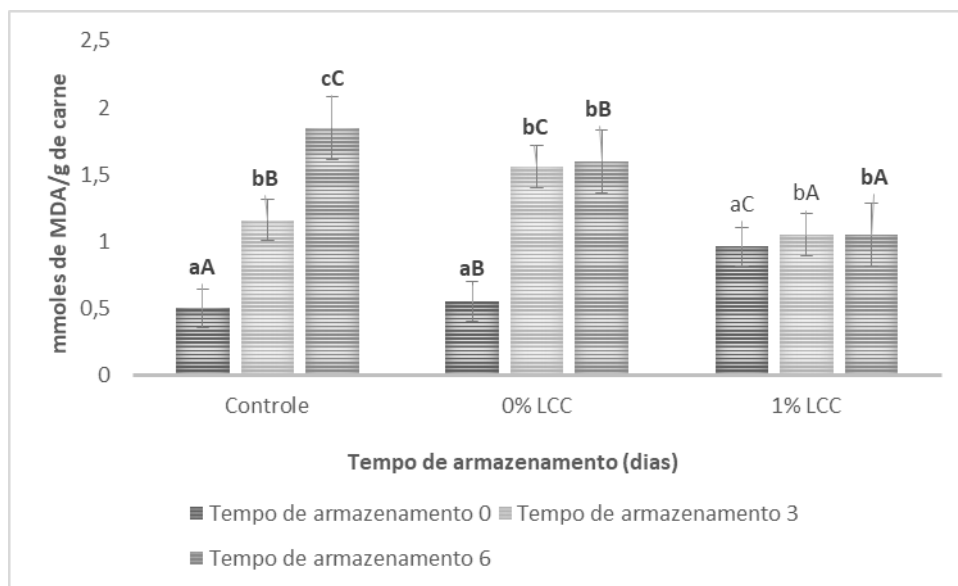


Figura 1. Valores de TBA das amostras de carne enriquecidas com revestimento bioativo a base de alginato de sódio e LCC sob diferentes períodos de armazenamento (4°C).

Letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre as amostras dentro de cada tratamento isoladamente pelo teste de Tukey

Letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre cada tratamento segundo cada tempos de armazenamento isoladamente pelo teste de Tukey

3.4 Atividade antimicrobiana

Na Figura 2, pode-se avaliar que houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) de crescimento microbiano mesófilos nos tratamentos controle e 0% LCC, quando comparadas as amostras que continham revestimento enriquecido com LCC, especialmente no tempo 6. Observa-se que as amostras envolvidas com SF a base de alginato de sódio obtiveram crescimento microbiano superior que as amostras controle.

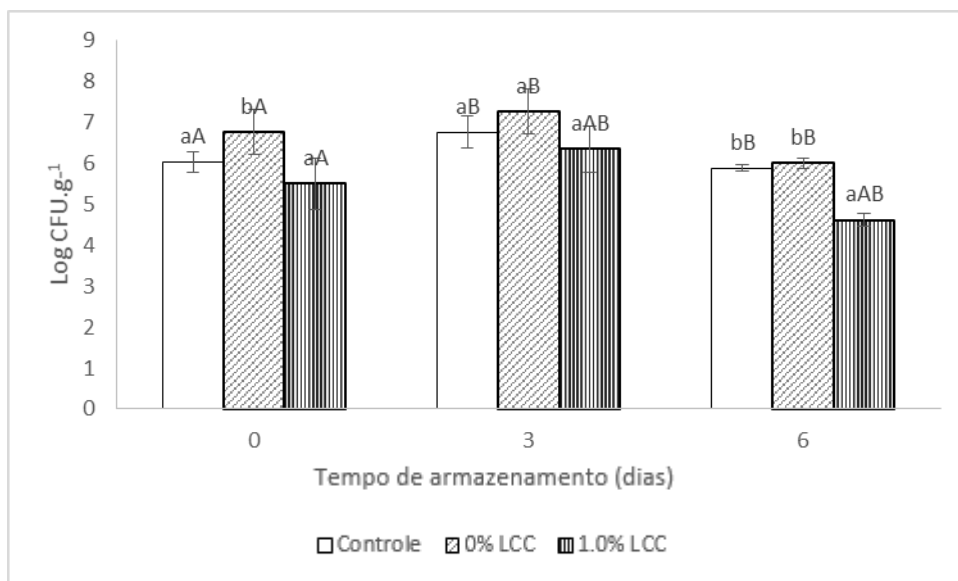


Figura 2. Contagem total de unidades formadoras de colônias (CFU) de mesófilos segundo amostras de carne bovina envolvidas com revestimentos a base de alginato e adicionado do Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) e tempo de armazenamento (4°C).

Letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre as amostras dentro de cada tempo proposto isoladamente pelo teste de Tukey

Letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre cada amostra segundo os três tempos de armazenamento pelo teste de Tukey

Quanto ao crescimento de microrganismos psicrófilos, observa-se que as amostras revestidas com LCC obtiveram crescimento microbiano semelhante ao grupo controle durante todo o tempo de armazenamento, sem diferenças estatísticas observadas ($p > 0,05$), evidenciando que para esse tipo de microrganismo, o revestimento não obteve característica antimicrobiana. As amostras revestidas com o tratamento à base de alginato de sódio obtiveram os maiores crescimento microbiano (Figura 3).

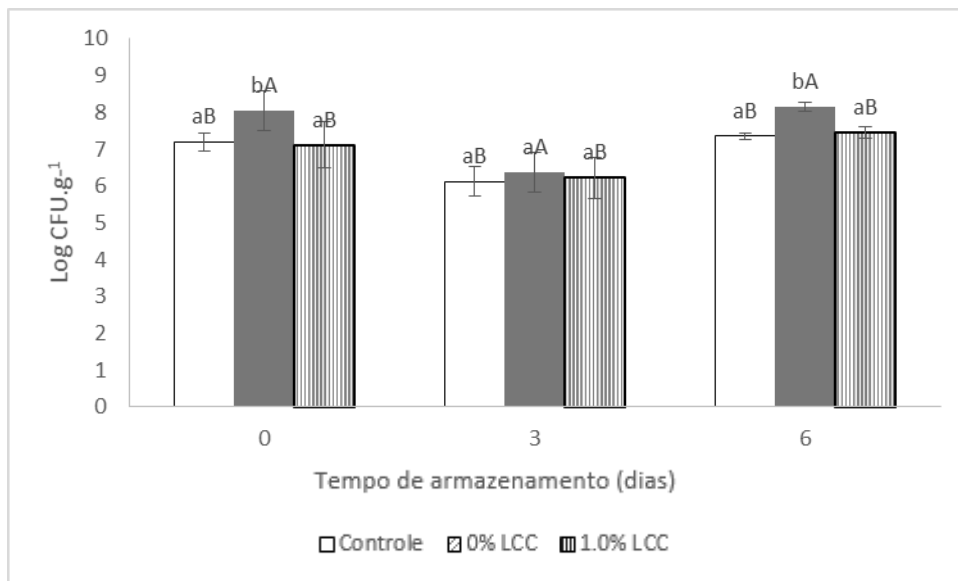


Figura 3. Contagem total de unidades formadoras de colônias (CFU) de psicrófilos segundo amostras de carne bovina envolvidas com revestimentos a base de alginato e adicionado do Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) e tempo de armazenamento (4°C).

Letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre as amostras dentro de cada tempo proposto isoladamente pelo teste de Tukey

Letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre cada amostra segundo os três tempos de armazenamento pelo teste de Tukey

4. Discussão

Um dos aspectos mais importantes e influenciadores na decisão de compra pelos consumidores, além de muito afetado pela deterioração alimentar, é a cor da carne, medida segundo o índice de vermelhidão (a^*). Observou-se diminuição dos valores deste parâmetro ao longo do período de armazenamento, especialmente das amostras controle. Acredita-se que isso se deu em razão da oxidação proteica da mioglobina e posterior conversão em metamioglobina, fruto do crescimento e deterioração por microrganismos, resultando assim em uma carne mais escura/amarronzada (KAEWPRACHU et al., 2017; FAUSTMAN et al., 2010). O parâmetro de coloração b^* (amarelo) reflete a quantidade de gordura presente na carne, além da quantidade de metamioglobina (CÉZAR; SOUSA, 2007), assim, a tendência a diminuição destes valores nas amostras controle diz respeito ao processo de oxidação lipídica presente na carne.

Outro parâmetro imprescindível no impacto a qualidade da carne é o pH, uma vez que tem ligação direta com o grau de desnaturação proteica (quanto mais baixo maior desnaturação), proteólise endógena e contração muscular (RAMOS; GOMINE,

2007). Foi possível observar que as amostras do tratamento controle apresentaram aumento gradativo de acordo com o tempo de armazenamento, ao passo que as amostras enriquecidas com revestimento bioativo com LCC obtiveram diminuição ou manutenção do pH, dentro dos valores considerados normais para carne bovina, com vistas que o limite máximo considerado viável para consumo varia entre 6,0 e 6,4 (BRASIL, 1997). Isso se deu ao fato de que, com o aumento do tempo de armazenamento, as enzimas microbianas tendem a degradar a proteína da carne (mioglobina), formando compostos nitrogenados, a exemplo da amônia e da trimetilamina, fazendo com que os valores de pH aumentem e, conseqüentemente, haja aumento do crescimento de cepas microbianas (BEHBAHANI; IMANI FOOLADI, 2018; GHANI et al., 2018). Percebe-se que a diminuição/preservação do pH foi fruto da capacidade do LCC, rico em compostos antioxidantes e antimicrobianos, de diminuir a permeabilidade ao dióxido de carbono nas amostras, auxiliando assim na redução do crescimento e proliferação microbiano, que são inibidos em pH mais baixo (BEHBAHANI et al., 2017).

De forma geral, os parâmetros de CRA não apresentaram diferença significativa ao longo dos dias de armazenamento. As amostras envolvidas com revestimento a base de LCC obtiveram as menores perdas até o terceiro dia de armazenamento, acreditando-se que isso se deve ao fato de que o presente revestimento foi capaz de atuar como barreira física propiciando menor permeabilidade ao vapor de água e conseqüentemente, atenuar a perda de peso (CATARINO et al., 2017; FENG et al., 2019). É provável que a partir do terceiro dia, este filme diminuiu sua eficiência, o que já era esperado, tendo em vista que a inclusão do LCC, por ser um componente hidrofóbico, afetou a propriedade hidrofílica dos filmes, levando a uma diminuição da afeição entre o filme pela água, aumentando, portanto, sua permeabilidade (HOSSEINI et al., 2009; GHASEMLOU et al., 2013; MAHCENE et al., 2019).

O aspecto de textura da carne, avaliada mediante a força de cisalhamento, trata-se de um dos principais parâmetros influenciadores da qualidade da carne, em que observou-se uma diminuição progressiva ao longo do tempo de armazenamento, para todos os tratamentos, especialmente as amostras controle e 0% LCC, respectivamente, onde as amostras enriquecidas com o revestimento bioativo de LCC obtiveram as menores diminuições, devendo-se isto ao fato de que quanto maior a população bacteriana, maior o índice de maciez, assim o presente resultado do estudo é benéfico,

tendo em vista a capacidade do óleo funcional de retardar a degradação proteica miofibrilar, segundo a menor atividade microbiana ativa na carne (GHANI et al., 2018; KRZYWDZINSKA-BARTKOWIAK et al., 2016; BEHBAHANI et al., 2020).

Os valores encontrados relativos ao teor de ferro das amostras apresentam relação com o índice de coloração destas, uma vez que a exuberância da tonalidade vermelho (a^*) deve-se a quantidade de mioglobina na carne (CÉZAR; SOUSA, 2007), bem como com os de oxidação lipídica, isso porque, durante esse processo, o ferro heme é parcialmente convertido em não ferro heme nas carnes e derivados e essa conversão a Fe^{3+} , propiciam maior catalise de oxidação de lipídios (REZAEI; HOSSEINI, 2008; JOHNS et al., 1989), assim tem-se observado que as proteínas mais ricas de grupamento heme vem sendo consideradas como catalizadores de propagação do ciclo peroxidativo (KATHIRVEL; RICHARDS, 2012), sendo considerado um dos fatores endógenos que promove oxidação lipídica nas carnes (LIMA JÚNIOR et al., 2013), justificando assim, os altos valores de ferro heme presente no grupo controle e o seu alto grau de oxidação lipídica.

Ao avaliar o processo de oxidação lipídica das amostras, através do método TBA, mediante a quantificação dos níveis de malondialdeído (MDA), produto secundário das reações de peroxidação, observou-se que as amostras controle alcançaram os valores mais altos no ensaio de TBARS e portanto, sofreram maior oxidação ao longo do período de armazenamento. Isso ocorreu mediante a presença de um radical livre que inicialmente reagiu com a cadeia hidrocarbonada, formando um peróxido, que reagiu sobre outra cadeia hidrocarbonada extraindo hidrogênios e originado um hidroperóxido, perpetuando o ciclo (WHEATLEY, 2000). Os melhores resultados relativos a menor formação de MDA foram provenientes das amostras envolvidas com o revestimento enriquecido com 1% de LCC na SF, sendo sua incorporação a grande responsável pelos resultados promissores, uma vez que o LCC técnico, caracterizado pela presença de compostos e lipídios fenólicos não-isoprenoides de cadeia longa e insaturada, com a presença de anéis aromáticos (MAZZETTO et al., 2009; BALACHANDRAN *et al.*, 2013), conferem a ele a capacidade de doador de prótons de hidrogênio para o radical peroxila, atuando como inibidor de radicais livres e como antioxidante primário (BARREIROS et al., 2006; ANDRADE, 2011).

Através da avaliação microbiológica das amostras analisadas, também foi possível observar que, apesar de visivelmente contaminadas a partir do dia 0,

provavelmente fruto de condições higiênico sanitárias inadequadas do local de aquisição, pode-se observar que ao longo do período de armazenamento o crescimento e proliferação microbiano foram significativamente menores nas amostras envolvidas com revestimento contendo LCC, o que já era esperado, em razão de característica antimicrobiana do LCC utilizado (técnico), atribuída a presença do cardanol, que, além de apresentar potente atividade antioxidante, também apresenta potencial antimicrobiano, mesmo que inferiormente ao ácido anacárdico, presente apenas no LCC *in natura*, além disso, a sua estrutura química do LCC técnico, rica em compostos fenólicos e terpenoides, bem como sua interação entre eles, também conferem a ele, essa característica (OSMARI et al., 2015; MAZZETTO et al., 2009; HIMEJIMA; KUBO, 1991).

De acordo com os autores Atares e Chiralt (2016), óleos com esta característica afetam as células microbianas por vários mecanismos, incluindo o ataque à bicamada fosfolipídica de a membrana celular, interrompendo sistemas enzimáticos e comprometendo o material genético das bactérias, liberando os compostos ativos ao entrarem em contato com a superfície alimentar e conseqüentemente auxiliando na inibição/retardo da proliferação bacteriana (GUO et al., 2017).

5. Conclusão

A utilização do revestimento bioativo à base de alginato e enriquecido com 1% de LCC, para conservação de carne bovina, propiciou menor formação de compostos voláteis como o malonaldeído ao longo do tempo de armazenamento, diminuindo o processo oxidativo e, por conseqüência, promovendo estabilidade lipídica a partir do sexto tempo, além de menor crescimento e multiplicação de microrganismos patogênicos de importante impacto agroalimentar, tais quais os que têm habilidade de crescer e multiplicar-se em altas temperaturas (mesófilos), caracterizando-o como um fator protetivo e estabilizante relativo à degradação microbiológica, apresentando, portanto, características promissoras para preservação de alimentos perecíveis, podendo vir a ser utilizado em substituição as embalagens convencionais garantindo melhoria da qualidade e aumento da vida útil, além de ser fruto de matérias primas biodegradáveis, caracterizando-se como um produto ecologicamente correto.

Referências

- Andrade, T. de J.A dos S., Araújo, BQ, Citó, AM das G.L, da Silva, J., Saffi, J., Richter, MF, Ferraz, A. de B.F (2011). Propriedades antioxidantes e composição química do líquido técnico da casca da castanha de caju (tCNSL). *Food Chemistry*, 126 (3), 1044–1048. doi: 10.1016 / j.foodchem.2010.11.122
- AOAC (2000). Official methods of analysis, v.2, 17th edition. AOAC, Gaithersburg, VA, USA.
- Balachandran, V. S., Jadhav, S. R., Vemula, P. K., John, G. (2013). Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 42 (2), 427–438. doi: 10.1039 / c2cs35344j
- Barreiros, A. L.; David, J. M.; David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, 29(1):113-123. doi:10.1590/s0100-40422006000100021
- Battisti, R., Fronza, N., Vargas Júnior, Á., Silveira, S. M. da, Damas, M. S. P., Quadri, M. G. N. (2017). Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 11, 115–124. doi:10.1016/j.fpsl.2017.01.009
- Behbahani, B. A, Shahidi, F., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Mohebbi, M. (2017). Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 515-526. doi: 10.1016 / j.ijbiomac.2016.10.055
- Behbahani, B. A., Imani Fooladi, A.A. (2018). Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of Food Safety*, 38 (3), e12443. doi: 10.1111 / jfs.12443
- Behbahani, B. A., Noshad, M., Jooyandeh, H. (2020). Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101563. doi: 10.1016 / j.bcab.2020.101563

- Beristain-Bauza, S. del C., Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A. (2017). Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef. *Food Microbiology*, 62, 207–211. doi:10.1016/j.fm.2016.10.024
- Brasil. Anvisa (2001). Resolução n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico relativo aos padrões microbiológicos para alimentos. Brasília-DF.
- Brasil. Anvisa. (2004). Resolução n° 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília-DF.
- Brasil. Anvisa. (2018). Guia para determinação de prazos de validade de alimentos. Brasília, DF. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5056443/Guia+16_2018+Prazo+de.pdf/e40032da-ea48-42ff-ba8c-a9f6fc7af7af> Acesso em: 15 abr 2020.
- Brasil. Anvisa. (2019). Resolução n° 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Brasília-DF.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (1997). Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Catarino, M.D., Alves-Silva, J.M., Fernandes, R.P., Gonçalves, M.J., Salgueiro, L.R., Henriques, M.F., Cardoso, S.M. (2017). Development and performance of whey protein active coatings with *Origanum virens* essential oils in the quality and shelf life improvement of processed meat products. *Food Control*; 80, 273–280.
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Cézar, M.F.; Sousa, W.H. (2007). *Carcaças ovinas e caprinas: obtenção, avaliação e classificação*. 1. ed. Uberaba - MG: Editora Agropecuária Tropical, p. 232.
- Duckett, S.K., Klein, T.A., Leckie, R.K., Thorngate, J. H., Busboom, J. R., Snowden, G. D. (1998). Effect of freezing on calpastatin activity and tenderness of callipyge lamb. *Journal of Animal Science*, 76(7):186-1874. doi: 10.2527/1998.7671869x.
- EUA. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. (2019). FoodKeeper App: Meat. Disponível em:

- <<https://www.foodsafety.gov/keep-food-safe/foodkeeper-app>> Acesso em: 15 abr 2020.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86(1), 86–94. doi: 10.1016 / j.meatsci.2010.04.025.
- Feng, Z., Li, L., Wang, Q., Wu, G., Liu, C., Jiang, B., Xu, J. (2019). Effect of antioxidant and antimicrobial coating based on whey protein nanofibrils with TiO₂ nanotubes on the quality and shelf life of chilled meat. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (5), 1184. doi: 10.3390 / ijms20051184
- Ghani, S., Barzegar, H., Noshad, M., Hojjati, M. (2018). The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 197–202. doi: 10.1016 / j.ijbiomac.2018.01.145
- Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J., Khaksar, R. (2013). Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 1117–1126. doi:10.1016/j.carbpol.2013.07.026
- Guo, M., Yadav, M. P., Jin, T. Z. (2017). Antimicrobial edible coatings and films from micro-emulsions and their food applications. *International Journal of Food Microbiology*, 263, 9–16. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.002
- Himejima, M., Kubo, I. (1991). Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(2), 418–421. doi:10.1021/jf00002a039
- Hosseini, M.H., Razavi, S.H., Mousavi, M. A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils - *Journal of Food Processing and Preservation*. 33: 727–743. doi: 10.1111 / j.1745-4549.2008.00307.x
- Johns, A. M., Birkinshaw, L. H., & Ledward, D. A. (1989). Catalysts of lipid oxidation in 414 meat products. *Meat Science*, 25, 209-220.
- Jridi, M., Mora, L., Souissi, N., Aristoy, M.-C., Nasri, M., Toldrá, F. (2018). Effects of active gelatin coated with henna (*L. inermis*) extract on beef meat quality during chilled storage. *Food Control*, 84, 238–245. doi:10.1016/j.foodcont.2017.07.041

- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., Suthiluk, P., Rawdkuen, S. (2017). Shelf life extension for Bluefin tuna slices (*Thunnus thynnus*) wrapped with myofibrillar protein film incorporated with catechin -Kradon extract. *Food Control*, 79, 333–343. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.014>
- Kathirvel, P., Richards, M. P. (2012). Effect of a membrane permeable metal chelator on iron and hemoglobin-mediated lipid oxidation in washed fish muscle. *Food Research International*, 48 (2), 346-352. doi: 10.1016 / j.foodres.2012.04.016
- Krzywdzińska-Bartkowiak, M., Rezler, R., Gajewska-Szczerbal, H. (2016). A influência das propriedades estruturais do músculo da carne em parâmetros mecânicos e de textura de presunto enlatado. *Journal of Food Engineering*, 181, 1-9. doi: 10.1016 / j.jfoodeng.2016.02.015
- Kubo, I., Masuoka, N., Ha, T. J., Tsujimoto, K. (2006). Antioxidant activity of anarcadic acids. *Food Chemistry*, 99, 555–562. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.023>
- Lima Júnior, D. M. de; Rangel, A. H. do N.; Urbano, S. A.; Moreno, G. M. B. (2013). Lipid oxidation and lamb meat quality. *Acta Veterinaria Brasilica*, 7(1):14-28. doi: 10.21708 / avb.2013.7.1.3119
- Lomonaco, D., Pinheiro Santiago, G. M., Ferreira, Y. S., Campos Arriaga, Â. M., Mazzetto, S. E., Mele, G., Vasapollo, G. (2009). *Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. Green Chemistry*, 11(1), 31–33. doi:10.1039/b811504d
- Lorenzo, J. M., Pateiro, M. (2013). Influence of type of muscles on nutritional value of foal meat. *Meat Science*, 93(3), 630–638. doi:10.1016/j.meatsci.2012.11.007
- Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., ... Franco, D. (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095–1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.005>
- Lorenzo, J.M. (2013). Horsemeat as a source of valuable fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(5). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300137>
- Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Akman, P. K, Bozkurt, F., Birech, K., Goudjil, M. B., Tornuk, F. (2019). Development and characterization of sodium alginate based active edible films incorporated with essential oils of some medicinal plants.

- International Journal of Biological Macromolecules*, S0141-8130(19)34634-3.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.093>
- Mazzetto, S. E., Lomonaco, D., Mele, G. (2009). Óleo da castanha de caju oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32, p. 732–741. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>.
- Miltenburg, G. A., Wensing, T., Smulders, F. J. M., Breukink, H. J. (1992). Relationship between blood hemoglobin, plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *Journal of Animal Science*, 70, 2766–2772.
- Osmari, M. P., Matos, L. F., Salab, B. L., Diaz, T. G., Giotto, F. M (2015). Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. *Publicações em medicina veterinária e zootecnia*, 9(3): 143-149.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006). Antimicrobial Effects of Alginate-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. *Journal of Food Protection*, 69(10), 2364–2369. doi:10.4315/0362-028x-69.10.2364
- Özogul, F., Tugce Aksun, E., Öztekin, R., & Lorenzo, J. M. (2017). Effect of lavender and lemon balm extracts on fatty acid profile, chemical quality parameters and sensory quality of vacuum packaged anchovy (*Engraulis encrasicolus*) fillets under refrigerated condition. *LWT - Food Science and Technology*, 84. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.024>
- Ramos, E. M.; Gomide, L. A. M. (2007). Avaliação da qualidade da carnes: fundamentos e metodologias. Viçosa: UFG.
- Rezaei, M., Hosseini, SF (2008). Quality Assessment of Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Chilled Storage. *Journal of Food Science*, 73 (6), H93 – H96. doi: 10.1111 /j.1750-3841.2008.00792.x
- Rodrigues, F. H. A., Feitosa, J. P. A., Ricardo, N. M. P. S., França, F. C. F. de, Carioca, J. O. B. (2006). Antioxidant activity of cashew nut shell liquid (CNSL) derivatives on the thermal oxidation of synthetic cis-1,4-polyisoprene. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(2), 265–271. doi:10.1590/s0103-50532006000200008
- Sharma, S., Shy, T., Kolonel, L. N. (2013). Contribution of meat to vitamin B12, iron and zinc intakes in five ethnic groups in the USA: Implications for developing

- foodbased dietary guidelines. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 26(2), 156–168. doi: 10.1111/jhn.12035.
- Shemesh, R., Krepker, M., Natan, M., Danin-Poleg, Y., Banin, E., Kashi, Y., Nitzan, N., Vaxman, A., Segal, E. (2015). Novel LDPE/halloysite nanotube films with sustained carvacrol release for broad-spectrum antimicrobial activity. *RSC Advances*, 2015, 5, 87108. doi: 10.1039/C5RA16583K
- Sierra, I. (1973). La denominación de origen en el ternasco de Aragón. *SURCOS (Revista Técnica del Departamento de Agricultura)*, 5:27-29.
- Topuz, F., Uyar, T. (2019). Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Electrospun Nanofibers for Food Packaging Applications. *Food Research International*, 108927. doi:10.1016/j.foodres.2019.108927
- Wheatley, R.A. (2000). Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(10):617-628.
- Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Shackelford, S. D. (1995) Standardized Warner-Bratzler shear force procedures for meat tenderness measurement. *Clay Center: Roman L. Hruska U. S. MARC. USDA*, 1995. 7p.
- Witte, V. C., Krause, G. F., Bailey, M. E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, 35(5), 582–585. doi:10.1111/j.1365-2621.1970.tb04815.x
- Yun D., Cai H., Liu Y., Xiao L., Song J. Liu J. (2019). Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra Sieb. et Zucc.*) anthocyanins. *RSC Advances*, 9, 30905. doi: 10.1039/C9RA06628D
- Zactiti, E. M., Kieckbusch, T. G. (2006). Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 462–467. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.07.015

Conclusão Geral

Mediante realização deste projeto, concluiu-se que o LCC, subproduto do agronegócio do caju, caracteriza-se como um óleo funcional com características promissoras para ser aplicado na indústria agroalimentar, na confecção de embalagens bioativas, com inclusão na proporção de 1%, a partir da identificação de sua característica antioxidante e antimicrobiana, que foram capazes de retardar a deterioração alimentar de produtos perecíveis como a carne bovina, formando filmes biopoliméricos com excelentes propriedades, quando adicionado à matriz com base de alginato de sódio, configurando-se um composto renovável e biodegradável promissor na luta contra a poluição ambiental ascendente proveniente especialmente das embalagens alimentícias a base do petróleo. Recomenda-se, então, a realização de mais estudos utilizando o presente óleo na aplicação em outros alimentos não perecíveis, a fim de agregar ainda mais valor a este subproduto e elucidar sua inclusão na indústria de alimentos.

