



# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

## EVALUACIÓN DE FILMS MULTICAPA DE ÁCIDO POLILÁCTICO PARA LA CONSERVACIÓN DE CARNE DE CERDO

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN DE LA  
SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO: **Javier Roselló Tomás**

TUTORA: **Maria Vargas Colás**

COTUTOR: **Sergio Torres Giner**

*Curso Académico: 2020/2021*

VALENCIA, 10 de septiembre de 2021

# EVALUACIÓN DE FILMS MULTICAPA DE ÁCIDO POLILÁCTICO PARA LA CONSERVACIÓN DE CARNE DE CERDO

Javier Roselló, Sergio Torres<sup>1</sup>, María Vargas<sup>1</sup>.

**Resumen.** El impacto negativo de los envases plásticos convencionales sobre el medioambiente hace necesaria la búsqueda de alternativas sostenibles basadas en derivados de recursos naturales. En este sentido, el ácido poliláctico (PLA) es un biopolímero biodegradable obtenido a partir del ácido láctico con numerosas aplicaciones potenciales para el envasado de alimentos. En el presente trabajo se han evaluado las propiedades funcionales de un envase multicapa de PLA, en comparación con dos materiales de envase convencionales: un multicapa de polietileno de baja densidad (LDPE), poli(etileno-co-alcohol vinílico) (EVOH) y poliamida 6 (PA6) y un bicapa compuesto por polipropileno (PP) y cloruro de polivinilideno (PVDC). Los materiales de envase se han caracterizado en sus propiedades mecánicas, y ópticas y de barrera a los gases (vapor de agua, oxígeno y aroma). Además, los materiales se han utilizado como envase para carne de cerdo almacenada en refrigeración y se han determinado los cambios en pH, color, oxidación lipídica y recuentos microbiológicos a distintos tiempos de almacenamiento. Los resultados mostraron que el film de PLA no dio lugar a diferencias significativas con respecto a los films multicapa convencionales en términos de recuentos microbianos, cambios de pH y color al final del almacenamiento. Por tanto, el film de PLA evaluado puede constituir una alternativa a los envases multicapa comerciales para la conservación de carne de cerdo.

**Palabras clave:** ácido poliláctico, biodegradable, envasado, multicapa, propiedades mecánicas, propiedades barrera, vida útil.

**Resum.** L'impacte negatiu dels envasos plàstics convencionals sobre el medi ambient fa necessària la recerca d'alternatives sostenibles basades en derivats de recursos naturals. En aquest sentit, l'àcid polilàctic (PLA) és un biopolímer biodegradable obtingut a partir de l'àcid làctic amb nombroses aplicacions potencials per a l'envasament d'aliments. En el present treball s'han avaluat les propietats funcionals d'un envàs multicapa de PLA, en comparació amb dos materials d'envàs convencionals: 1 multicapa de polietilè de baixa densitat (LDPE), poli(etilè-co-alcohol vinílic) (EVOH) i poliamida 6 (PA6) i un de doble capa compost per polipropilè (PP) i clorur de polivinilideno (PVDC). Els materials d'envàs s'han caracteritzat en les seves propietats mecàniques, i òptiques i de barrera als gasos (vapor d'aigua, oxigen i aroma). A més, els materials s'han utilitzat com a envàs per a carn de porc emmagatzemada en refrigeració i s'han determinat els canvis en pH, color, oxidació lipídica i recomptes microbiològics a diferents temps d'emmagatzematge. Els resultats van mostrar que el film de PLA no va donar lloc a diferències significatives pel que fa als films multicapa convencionals en termes de recomptes microbians, canvis de pH i color a la fi de l'emmagatzematge. Per tant el film de PLA avaluat pot constituir una alternativa als envasos multicapa comercials per a la conservació de carn de porc.

**Paraules clau:** àcid polilàctic, biodegradable, envasat, multicapa, propietats mecàniques, propietats barrera, vida útil.

**Abstract.** The negative impact of conventional plastic packaging on the environment makes it necessary to search for sustainable alternatives based on derivatives of natural resources. In this sense, polylactic acid (PLA) is a biodegradable biopolymer obtained from lactic acid with numerous potential applications for food packaging. In the present project, the functional properties of a multilayer PLA container have been evaluated, in comparison with two conventional packaging materials: a multilayer of low-density polyethylene (LDPE), poly (ethylene-co-vinyl alcohol) (EVOH) and polyamide 6 (PA6) and a bilayer composed of polypropylene (PP) and polyvinylidene chloride (PVDC). The packaging materials have been characterized in their mechanical, optical and gas barrier (water vapor, oxygen and aroma) properties. In addition, the materials have been used as packaging materials for pork meat stored in refrigeration, and the changes in pH, color, lipid oxidation and microbial counts at different storage times have been determined. Results showed that PLA films did not lead to significant differences as compared to conventional multilayer films in terms of microbial counts, pH and color changes at the end of storage. Therefore, the evaluated PLA film could constitute an alternative to commercial multilayer packaging for the preservation of pork meat.

**Key words:** polylactic acid, biodegradable, packaged, multilayer, mechanical properties, barrier properties, shelf-life.

<sup>1</sup>Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia.

## 1. INTRODUCCIÓN

La conservación de alimentos tiene como objetivo extender la vida útil y proporcionar productos seguros a los consumidores mediante diferentes materiales y tecnologías. Diversos factores pueden influir en las propiedades de los alimentos envasados y estos están determinados por el tipo de alimento y definen el método de las técnicas de conservación que se emplean (Robertson, 2016). Los avances en los materiales de envasado han desempeñado un papel importante en la nueva conservación de alimentos. De hecho, en los últimos años, los polímeros han sido clave para facilitar la conservación de alimentos. Además, el envasado de alimentos puede funcionar más allá de las propiedades de protección convencionales y proporciona muchas funciones para el producto alimentario, como la conservación prolongada, la entrega de alimentos saludables, la conveniencia y la comunicación (Radusin et al., 2019)

Los materiales plásticos han ganado su actual relevancia en aplicaciones de envasado de alimentos debido a sus propiedades equilibradas (por ejemplo, transparencia, flexibilidad, bajo costo, facilidad de procesamiento, bajo peso, etc.) alta versatilidad basada en la amplia variedad de formulaciones para requisitos específicos de los productos (Baroni et al., 2007). El envasado sigue siendo el uso dominante de los plásticos, que representa casi el 40% del mercado de plásticos (Artés & Allende, 2015) del cual más del 90% corresponde a la conservación de alimentos (Hijnen et al., 2006). Los desarrollos de barreras en el área de envasado de alimentos han ayudado en gran medida a reducir el desperdicio de alimentos, ya que la calidad de la mayoría de los productos alimentarios se deteriora debido a fenómenos de transferencia de masa, como la absorción de humedad, la invasión de oxígeno, la pérdida de sabor, la absorción de olores indeseables y la migración de los componentes del envase al alimento.

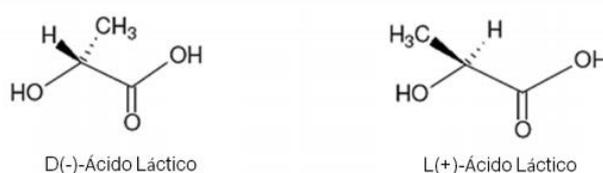
Los materiales de envase obtenidos a partir de polímeros puros, en la mayoría de los casos, no pueden cumplir completamente con los requisitos de barrera necesarios para diferentes usos de envasado de alimentos, por ejemplo, envasado de líquidos o cereales secos y *snacks* (Buntinx et al., 2014). Así, para lograr el rendimiento de alta barrera necesario para estas aplicaciones de envasado de alimentos, así como conseguir nuevos diseños de envases y minimizar los costos de material de envasado, la industria del envasado de alimentos emplea principalmente materiales obtenidos a partir de múltiples capas de polímeros. Estos materiales consisten habitualmente en hasta 12 o incluso más capas y / o revestimientos simétricos o asimétricos especialmente diseñados para ser impermeables a la penetración y migración de gases y humedad (Domeño et al., 2017). Los films multicapa resultantes utilizan habitualmente muchos polímeros diferentes con propiedades de barrera específicas para proporcionar un obstáculo preciso contra una amplia gama de gases como vapor de agua, oxígeno y dióxido de carbono o incluso líquidos. Sin embargo, al mismo tiempo, los materiales de envase multicapa están generando serios problemas relacionados con la eliminación de plástico al final de su vida útil (Sempels & Hoffmann, 2013). De hecho, en países desarrollados, una parte importante de los residuos sólidos urbanos consiste en materiales poliméricos derivados de estructuras multicapa, ya que resultan extremadamente difíciles de

separar y reciclar (Dixon et al., 2011). Por tanto, la gestión adecuada de estos plásticos posconsumo representa un desafío social fundamental.

El ácido poliláctico (PLA) es un poliéster alifático lineal. Proviene de fuentes naturales como el maíz, el trigo o la maicena y también es completamente biodegradable y compostable con la temperatura y humedad adecuadas bajo instalaciones de compostaje industrial (Aznar et al., 2019).

El PLA se considera una alternativa a los polímeros convencionales a base de petróleo, ya que muestra propiedades mecánicas similares, propiedades de tracción, alta transparencia y degradabilidad (Gürler et al., 2021). Actualmente, se envasan y comercializan varios tipos de alimentos con materiales a base de PLA, con un alto rango de propiedades físicas, actividad de agua y pH. Algunos ejemplos de alimentos envasados con PLA son vegetales y ensaladas frescas (Gerometta et al., 2019).

Respecto a su estructura química, el PLA se obtiene por polimerización del monómero ácido láctico. El ácido láctico es una molécula ópticamente activa, por tanto existen como dos estereoisómeros: L(+) y D(-) representados en la Figura 1.



**FIGURA 1.** Estructura química de los dos estereoisómeros del ácido láctico (Arrieta,2014)

La producción de PLA comienza a partir de plantas ricas en carbohidratos, como es el maíz o el trigo, donde el almidón se separa de los otros componentes del grano de maíz y se convierte en dextrosa a través de una hidrólisis enzimática. Esta es convertida en ácido láctico con la ayuda hongos o por fermentación bacteriana llevada a cabo por bacterias del género *Lactobacillus* (Arrieta, 2014). El PLA se puede sintetizar mediante polimerización por condensación directa de monómero de ácido láctico o polimerización por apertura de anillo de dímero de lactida cíclico. En general, la técnica de apertura de anillo se utiliza comercialmente para producir PLA de alto peso molecular sin disolventes (Nofar et al., 2019).

El presente estudio tiene como objetivo la evaluación de las propiedades mecánicas, barrera y ópticas de films multicapa de ácido poliláctico (PLA), así como la factibilidad de su aplicación para el envasado de carne de cerdo, en comparación con dos materiales de envase multicapa convencionales.

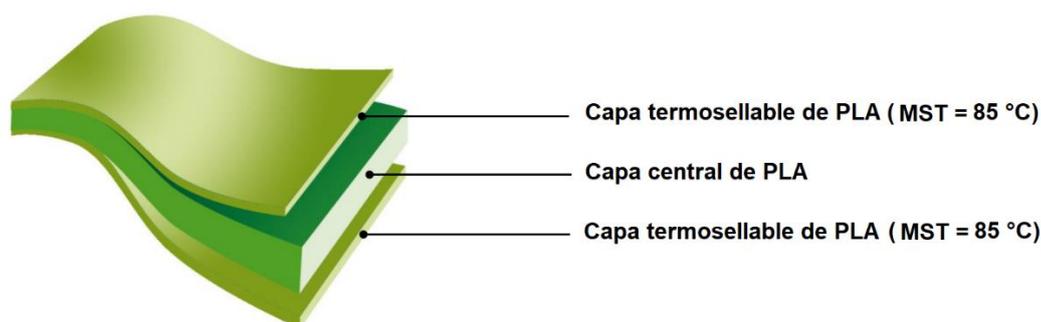
## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materiales

El film multicapa de PP/PVDC/PP con un espesor de 78  $\mu\text{m}$  fue proporcionado por Cryovac Inc., (Sealed Air Spain, Buñol, España), con

referencia comercial VST200P. Se trata de un multicapa basado en PP para aplicaciones de laminación en el envasado de alimentos.

El film transparente biorientado de PLA, con un espesor total de 20  $\mu\text{m}$  y obtenido a partir de recursos naturales y biodegradable según "OK bio-based" (S206) y DIN EN 13432 (7H0052) fue proporcionado por Industrias Taghleef (Jaén, España). Se trata de un multicapa compuesto por tres capas de PLA que es termosellable por ambos lados. La Figura 2 muestra un esquema de la estructura tricapa de PLA, la cual presenta una mínima temperatura de sellado (minimum sealing temperature, MST) de 85  $^{\circ}\text{C}$ . El film multicapa de LDPE/EVOH/PA6 con un espesor total de 113  $\mu\text{m}$ , que fue suministrado por WK THOMAS (Barcelona, España).



**FIGURA 2.** Tricapa o multicapa de PLA (Industrias Taghleef, Jaén, España)

En los ensayos microbiológicos se utilizó un film comercial de PVC convencional para proteger las muestras control no envasadas (Bosque Verde, Mercadona, España). Etanol absoluto (EtOH) y  $\text{D}$ -limoneno, que fueron suministrados por Sigma-Aldrich SA (Steinhein, Alemania). Nitrato de magnesio-6-hidrato ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ), ácido tricloroacético y reactivo TBA, suministrados por Panreac Química, SA (Castellar del Vallés, Barcelona, España).

La carne de cerdo se compró en un supermercado local (Consum, Valencia, España) y se procesó en el laboratorio. Los medios microbiológicos (agua de peptona tamponada, agar Rojo Bilis Violeta (VRB) y agar Plate Count (PCA), fueron proporcionados por Scharlab (Barcelona, España) y el Agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) fue proporcionado por Lankem-Labbox (Barcelona, España).

## 2.2. Métodos

### 2.2.1 Espesor y propiedades mecánicas

El espesor de los films se midió, en diez puntos aleatorios, sobre las muestras después de acondicionarse a 25  $^{\circ}\text{C}$  y 53% de humedad relativa (HR) con un micrómetro electrónico digital con una precisión de 0,001 mm (Palmer modelo Comecta, Barcelona).

Las propiedades mecánicas de los films se evaluaron utilizando una prensa universal de ensayos mecánicos (Stable Micro System TA-XT plus, Haslemere, Inglaterra) siguiendo el método estándar ASTM D882 (2001). Se midió el espesor de doce muestras de film preacondicionadas a 25  $^{\circ}\text{C}$  y 53% de humedad relativa

(HR) de 25 mm × 100 mm en seis puntos aleatorios mediante un micrómetro digital electrónico (Comecta S.A., Barcelona, España). Las muestras se posicionaron en unas pinzas para ensayo de tensión (modelo A/TG, Stable Micro Systems Haslemere, Reino Unido) y se sometieron a un ensayo de tracción a una velocidad de 50 mm min<sup>-1</sup> hasta la rotura. Las curvas fuerza-distancia obtenidas en el ensayo se transformaron en curvas de tensión-deformación de Henky que permitieron obtener los parámetros de módulo elástico (ME), tensión a la fractura (TF) y porcentaje de deformación en el momento de la rotura (%E).

### 2.2.2 Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas se determinaron por triplicado midiendo el espectro de reflexión de los films a una longitud de onda de 400 a 700 nm utilizando un espectro-colorímetro MINOLTA (modelo CM-5, Minolta Co., Tokio, Japón), utilizando un fondo blanco y un fondo negro estándar. La transparencia se midió mediante la transmitancia interna (Ti), aplicando la teoría de Kubelka-Munk de la dispersión múltiple del espectro de reflexión dados los espectros de reflexión. Las coordenadas de color CIE L\* a\* b\* (CIELAB) y los parámetros cromáticos (croma y tono) se obtuvieron a partir de la reflectancia de una capa infinitamente gruesa del material considerando el iluminante D65 y el observador 10°.

### 2.2.3 Propiedades barrera

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) se determinó gravimétricamente siguiendo una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (1995), a 25 °C y un gradiente de HR de 53 a 100%, utilizando copas de permeabilidad Payne. En el caso del multicapa LDPE/ EVOH / PA6, el lado de LDPE se expuso a la atmósfera con la HR más baja (53%). Las copas se pesaron periódicamente utilizando una balanza analítica (ME36S, Sartorius, Alemania, ± 0,00001 g). Cada una de las copas se pesó periódicamente durante cinco días. Se representó gráficamente la pendiente de la pérdida de peso frente al tiempo y se calculó la PVA. Para la permeabilidad al limoneno (PL), el procedimiento fue similar al descrito anteriormente para PVA con la diferencia de que se colocaron 5 ml de D-limoneno dentro de las copas de permeabilidad Payne y estas se colocaron en condiciones ambientales controladas de 25 °C y un gradiente de HR de 53% a 100%.

La permeabilidad al oxígeno (PO) se determinó siguiendo el método estándar ASTM D3985-05 (2010). Tres muestras de 50 cm<sup>2</sup> de cada formulación se midieron utilizando el equipo Ox-Tran (Modelo 1/50, Mocon, Mineápolis, EE.UU.) a 25 °C y una HR del 53%. La permeabilidad al oxígeno se calculó dividiendo la velocidad de transmisión de oxígeno (OTR) por la diferencia de la presión parcial de oxígeno entre los dos lados del film y multiplicando por el espesor.

### 2.2.4 Preparación de las muestras de carne de cerdo

La carne de cerdo fresca se compró a un proveedor local (Consum, Valencia, España). Para evitar la contaminación cruzada durante la preparación de las muestras, todos los utensilios y superficies de trabajo se desinfectaron con etanol al 96% (Panreac SA, Barcelona, España) y todos los films (PP/PVDC, PLA, LDPE / EVOH / PA6 y control) se esterilizaron por exposición a luz ultravioleta

(UV) durante 30 min en una cabina de flujo laminar (Bio II Advance, Telstar, Terrassa, España).

La carne de cerdo se cortó en filetes de 10 g utilizando una rebanadora profesional (Smarty 250 IX, Manconi, Italia) y se colocó inmediatamente dentro de las bolsas de cada uno de los films de tamaño 10 cm x 9 cm termoselladas con una máquina de envasado al vacío (SAECO Vacio Press Elite, Barcelona, España). Se utilizaron como control muestras de carne de cerdo protegidas por un film de cocina transparente. Todas las muestras se almacenaron en condiciones de refrigeración a (5 °C, 48% HR) durante 15 días.

## 2.2.5 Evaluación de la vida útil

### 2.2.5.1 Caracterización físico-química

El pH se determinó usando un medidor de pH digital mediante la inserción directa de la sonda de electrodo (Mettler-Toledo GmbH, Schwerzenbach, Suiza) en la carne de cerdo. Las mediciones se realizaron a día 0 (antes del envasado), y a los días 3, 7, 11 y 15. Se tomaron cinco medidas, por duplicado, para cada muestra (10 repeticiones).

La pérdida de peso fue cuantificada por duplicado a partir de la masa inicial de carne envasada y la medida de la masa a cada tiempo de almacenamiento con una balanza (Sartorius, Goettingen, Germany). Las coordenadas de color (CIE L\* a\* b\*) de la carne de cerdo envasada se midieron utilizando el iluminante D65/observador de 10°, en seis puntos aleatorios de la superficie de la muestra, utilizando el espectro colorímetro MINOLTA (modelo CM-5, Minolta Co., Tokio, Japón). Las propiedades ópticas se determinaron por triplicado midiendo el espectro de reflexión de los films a una de longitud de onda de 400 a 700 nm. Se analizaron, por duplicado, tres muestras de carne de cerdo envasadas con cada film a los 0, 3, 7, 11 y 15 días.

El grado de oxidación lipídica se evaluó mediante la cuantificación de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo con el método descrito por Siu y Draper (1978). Para ello, al inicio y al final del almacenamiento, 10 g de cada muestra se colocaron en bolsas (Stomacher 440 Classic Strainer Bags, Worthing, Reino Unido) con 50 ml de agua destilada que se homogeneizaron durante 2 min utilizando un homogeneizador (IUL Instruments, Barcelona, España). A continuación, se añadieron 50 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 10%. El homogeneizado se filtró con una bomba de vacío utilizando papel de filtro Whatman nº 1. Se agregaron 8 ml del filtrado transparente a 2 ml de reactivo TBA 0.06 M y se incubaron durante 90 min a 80 °C antes de leer la absorbancia a 532 nm. Los resultados se expresaron en mg de malonaldehído (MDA)/kg de muestra.

### 2.2.5.2 Análisis microbiológico

Las muestras de carne se analizaron para determinar el crecimiento bacteriano en diferentes tiempos de almacenamiento (0, 3, 7, 11 y 15 días). Se tomaron asépticamente un total de 10 g de muestra de carne envasada en cada uno de los films utilizando pinzas estériles en la cabina de flujo laminar y, posteriormente, se colocaron en bolsas estériles (Stomacher 440 Classic Strainer Bags, Worthing, Reino Unido) con 90 ml de agua de peptona (Scharlab,

Barcelona, España). Las bolsas de Stomacher se homogeneizaron durante 3 min utilizando un homogeneizador (IUL Instruments, Barcelona, España).

A continuación, se realizaron diluciones decimales seriadas que se sembraron en placa. Para la realización de los recuentos de coliformes totales se utilizó Agar Rojo Bilis Violeta (VRB), para los recuentos de aerobios totales se utilizó Plate Count Agar (PCA) y para los recuentos de bacterias ácido lácticas se utilizó agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS). Las placas utilizadas para los recuentos de aerobios totales y coliformes totales se incubaron a 37 °C durante 48 h, mientras que las placas sembradas para los recuentos de bacterias ácido lácticas se incubaron a 30 °C durante 72 h. Después de la incubación, se contaron las colonias. Los ensayos se realizaron por duplicado.

### 2.2.6 Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Centurion XVI (Manugistics Corp., Rockville, Maryland). Para ello, se asumieron diferencias significativas con un nivel de significación superior al 95%.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización de los films

#### 3.1.1 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de los materiales de envasado utilizados se muestran en la Tabla 1.

**TABLA 1.** Propiedades mecánicas (módulo elástico (ME), tensión a la fractura (TF) y porcentaje de deformación en el momento de la rotura (%E) de los films. Media  $\pm$  desviación estándar.

Film	ME (Mpa)	TF (Mpa)	E (%)
PLA	2167 $\pm$ 209 <sup>a</sup>	89 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	5 $\pm$ 1 <sup>b</sup>
LDPE/EVOH/PA6	258 $\pm$ 24 <sup>c</sup>	42 $\pm$ 3 <sup>c</sup>	67 $\pm$ 8 <sup>a</sup>
PP/PVDC	529 $\pm$ 27 <sup>b</sup>	71 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	56 $\pm$ 8 <sup>a</sup>

a-c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0,05$ ).

Como puede observarse, el multicapa LPDE/EVOH/PA6 presentó el menor módulo elástico (ME) y tensión a la fractura (TF), seguido por el multicapa de PP/PVDC. Tanto para el ME como para la TF, el film de PLA obtuvo valores significativamente más elevados; sin embargo, también presentó una deformación hasta la fractura significativamente menor. Por lo tanto, se puede indicar que, en lo referente a su desempeño mecánico, los films multicapas comerciales de LPDE/EVOH/PA6 y PP/PVDC presentaron características más propias de film o películas apropiadas para aplicaciones de envasado flexible, mientras que en el caso del multicapa de PLA, al tratarse de un film más rígido y menos deformable, sus usos estarían más destinados a envases rígidos como bandejas, tapas o láminas. Los valores obtenidos para los films de PLA son similares a las propiedades mecánicas descritas para piezas inyectadas (Quiles-

Carrillo et al., 2018) o films (Rojas-Lema et al., 2020) de PLA, por lo que se puede considerar que la presencia de varias capas no altera las características originales del PLA y éstas presentarían una buena adhesión.

### 3.1.2 Espesor y propiedades barrera

En la Tabla 2 se muestran las propiedades de barrera al oxígeno de los diferentes materiales y en la Tabla 3 las propiedades de barrera a los vapores de agua y limoneno en términos de velocidad de trasmisión y permeanza del multicapa.

**TABLA 2.** Espesor, velocidad de transmisión (OTR), permeanza y permeabilidad aparente al oxígeno (OP) de los films. Media  $\pm$  desviación estándar.

Film	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	OTR ( $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$ )	Permeanza $10^{-10}(\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1})$	OP $10^4(\text{m}^3 \text{m}^{-1} \text{Pa}^{-1} \text{día}^{-1})$
PLA	$20 \pm 1^c$	$1009,8 \pm 1^a$	$20,2 \pm 0,02^a$	$276 \pm 0,34^a$
LDPE/EVOH/PA6	$113 \pm 3^a$	$1,9 \pm 0,06^c$	$0,2 \pm 0,008^c$	$2,78 \pm 0,11^c$
PP/PVDC	$78 \pm 2^b$	$85,2 \pm 0,7^b$	$6,7 \pm 0,03^b$	$89,1 \pm 0,43^b$

a-c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0,05$ ).

**TABLA 3.** Ratio de transmisión del vapor de agua (WVTR), permeanza al vapor de agua (PERM VA), permeabilidad al vapor de agua (PVA), ratio de transmisión del limoneno (LTR), permeanza al limoneno (PERM L) y permeabilidad al limoneno (PL) de los films de PLA y multicapas. Media  $\pm$  desviación estándar.

Film	WVTR ( $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$ )	PERM VA $10^{-9}(\text{kg m}^{-2} \text{Pa}^{-1} \text{día}^{-1})$	PVA $10^{-3}(\text{kg m m}^{-2} \text{Pa}^{-1} \text{día}^{-1})$	LTR ( $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$ )	PERM L $10^{-9}(\text{kg m}^{-2} \text{Pa}^{-1} \text{día}^{-1})$	PL $10^{-3}(\text{kg m m}^{-2} \text{Pa}^{-1} \text{día}^{-1})$
PLA	$0,2 \pm 0,006^a$	$140 \pm 4,58^a$	$19,44 \pm 0,55^a$	$0,05 \pm 0,41^a$	$33,8 \pm 11,7^a$	$4,94 \pm 1,67^a$
LDPE/EVOH/PA6	$0,001 \pm 0,00^c$	$0,83 \pm 0,42^c$	$0,83 \pm 0,00^c$	$0,002 \pm 1,4 \cdot 10^{-3b}$	$1,67 \pm 0,54^b$	$1,39 \pm 0,28^b$
PP/PVDC	$0,004 \pm 0,002^b$	$2,92 \pm 1,67^b$	$2,78 \pm 1,18^b$	$0,003 \pm 1,2 \cdot 10^{-3b}$	$2,08 \pm 0,42^b$	$1,11 \pm 0,55^b$

a-c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0,05$ ).

### 3.1.3 Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas de los films se muestran en la TABLA 4.

**TABLA 4.** Valores promedio y desviaciones estándar de la Claridad ( $L^*$ ), croma ( $C_{ab}^*$ ) y tono ( $h_{ab}^*$ ) de los films. Valores medios  $\pm$  desviación estándar.

Film	$L^*$	$C_{ab}^*$	$h_{ab}^*$
PLA	$94,9 \pm 1^a$	$4,3 \pm 1^a$	$127 \pm 7^b$
LDPE/EVOH/PA6	$84,6 \pm 1^b$	$2,6 \pm 0,4^b$	$132 \pm 4^b$
PP/PVDC	$85,6 \pm 1^b$	$1,9 \pm 0,2^c$	$148 \pm 1,4^a$

a-c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0,05$ ).

Los multicapa mixtos tuvieron unos valores similares de luminosidad ( $L^*$ ), mientras que en el multicapa de PLA la luminosidad fue significativamente mayor. En cuanto al croma ( $C_{ab}^*$ ) el PLA tuvo el valor más alto, seguido por el

multicapa de PP/PVDC y el de LDPE/EVOH/PA6. En cuanto a los valores de tono ( $h_{ab}^*$ ), no hubo diferencias significativas entre el multicapa de PLA y el multicapa LDPE/EVOH/PA6. El multicapa de PP/PVDC presentó un tono significativamente mayor ( $p < 0,05$ ).

En la figura 3 se encuentran representados los valores de transmitancia interna ( $T_i$ ) para longitudes de onda entre 400 y 700 nm. Podemos observar valores de transmitancia entre 0,88 y 0,91 para los multicapa mixtos, mientras que los de PLA puro tuvieron valores mayores, entre 0,92 y 0,93, para todas las longitudes de onda, lo que es coherente con su espesor significativamente menor y con su homogeneidad.

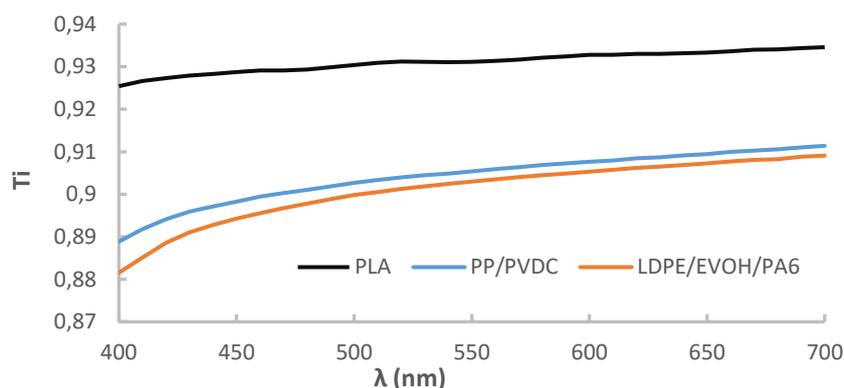


FIGURA 3. Espectro típico de transmitancia interna ( $T_i$ ) entre 400 y 700 nm de los films.

### 3.2 Evaluación de la vida útil de carne de cerdo

#### 3.2.1 Características físico-químicas

La Figura 4 muestra la evolución del pH de las muestras envasadas durante el almacenamiento.

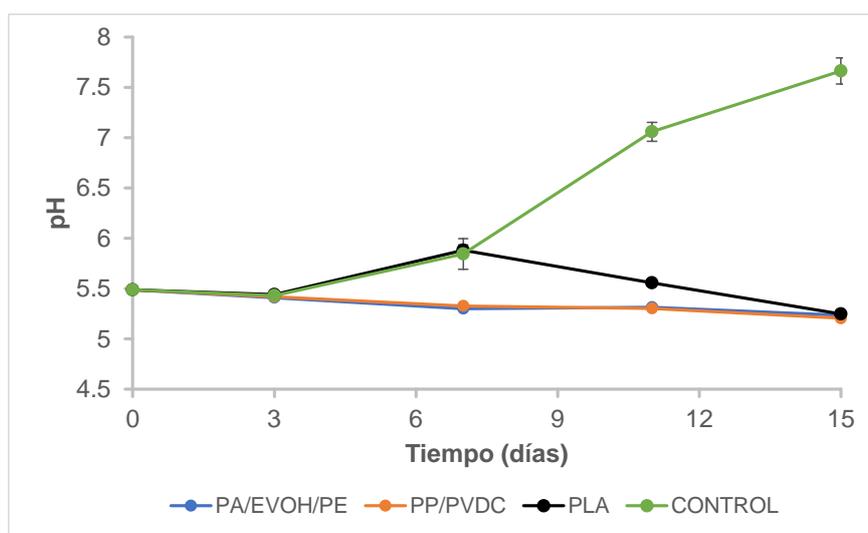
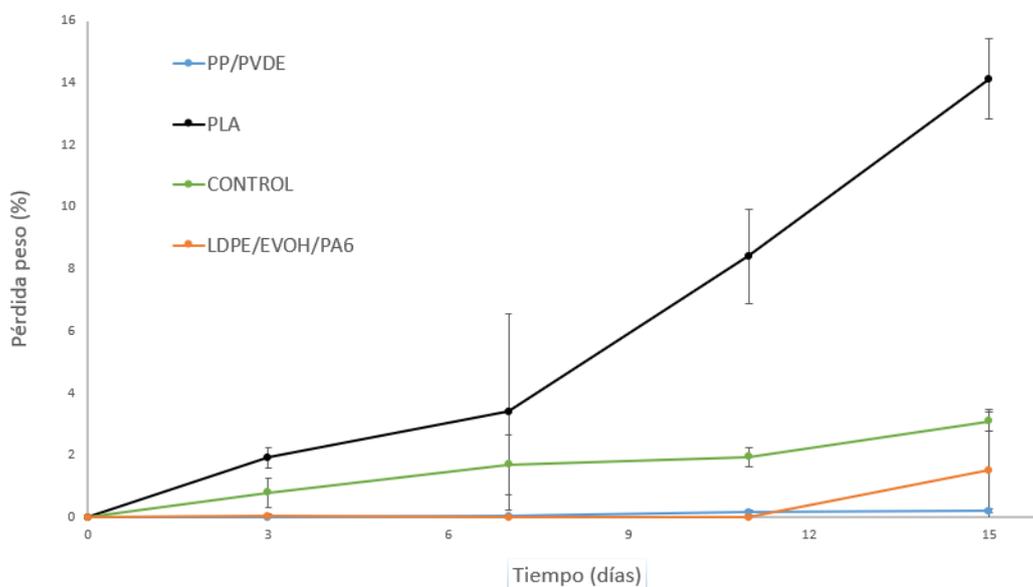


FIGURA 4. Evolución del pH de las muestras de carne de cerdo envasadas en films multicapa y muestras control (film transparente de cocina).

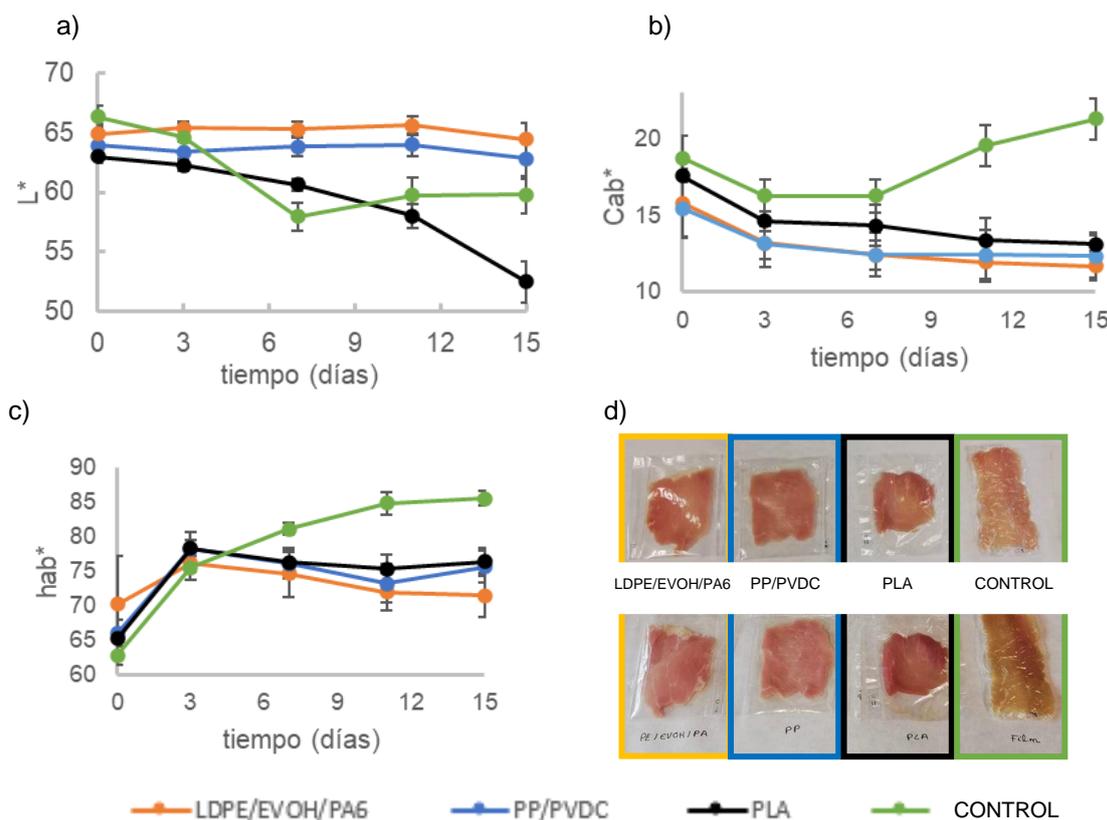
El ANOVA mostró un efecto significativo tanto del tiempo del almacenamiento como del tipo de envase, así como la interacción entre ambos factores en la evolución del pH ( $p < 0,05$ ), siendo el factor “tipo de envase” el que tuvo más influencia. Durante el almacenamiento, es esperable que los valores de pH de la carne aumenten debido al aumento del contenido en bases nitrogenadas resultantes de la proteólisis provocadas por la actividad de los microorganismos durante el almacenamiento (Athayde et al., 2017). Tal y como se muestra en la Figura 3, este comportamiento se observó para la carne control (envuelta en film de cocina) donde el pH aumentó de manera significativa durante todo el almacenamiento. Sin embargo, la evolución del pH de la carne envasada con los tres materiales multicapa fue significativamente distinta a la de la carne control, observándose valores de pH menores que el de las muestras control a partir de los 7 días de almacenamiento. Esto puede ser explicado por la alta barrera al oxígeno de los materiales de envase que ralentiza la actividad de los microorganismos causantes del deterioro y promueve la actividad de las bacterias ácido lácticas que producen  $\text{CO}_2$  y un descenso de pH provocado por la reacción entre el ácido láctico y el  $\text{CO}_2$ . Resultados similares fueron obtenidos por Daniloski et al., (2019) en carne de cerdo almacenada al vacío en refrigeración.

La pérdida de peso de las muestras durante el almacenamiento se muestra en la Figura 5. Los films multicapa de LDPE/EVOH/PA6 y PP/PVDC dieron lugar a una pérdida de peso menor durante el almacenamiento, lo que es coherente con la alta barrera al vapor de agua y a los aromas de estos materiales (Tabla 3). El envase de PLA no redujo la pérdida de peso con respecto a las muestras control (envueltas en film de cocina) debido a la pobre barrera al agua del PLA.



**FIGURA 5.** Evolución pérdida de peso (g / 100 g) de las muestras durante el almacenamiento. Valores medios y desviación estándar.

La Figura 6 muestra la evolución de los parámetros cromáticos (luminosidad, croma y tono), así como una imagen de las muestras al inicio y al final del almacenamiento.



**FIGURA 6.** Evolución de los parámetros cromáticos a) luminosidad ( $L^*$ ), b) croma ( $C_{ab}^*$ ), y c) tono ( $h_{ab}^*$ ), durante el almacenamiento a  $5^{\circ}\text{C}$  y d) aspecto de las muestras de carne de cerdo al inicio (arriba) y al final del almacenamiento (abajo). Valores medios y desviación estándar.

El ANOVA mostró un efecto significativo tanto del tiempo del almacenamiento como del tipo de envase, así como la interacción entre ambos factores en todos los parámetros cromáticos evaluados ( $p < 0,05$ ), siendo el factor “tipo de envase” el que tuvo más influencia. Los valores de luminosidad ( $L^*$ ) apenas variaron durante los 15 días del almacenamiento en la carne envasada con los films LDPE/EVOH/PA6 y PP/PVDC, que son los que mostraron una menor permeabilidad al agua, y a una menor pérdida de peso total al final del almacenamiento (Figure 4). En las muestras envasadas con los films de PLA se observó un descenso significativo en los valores del  $L^*$  a partir del séptimo día de almacenamiento, coherente con la mayor pérdida de peso detectada en estas muestras, siendo el descenso de  $L^*$  significativamente mayor que el detectado en las muestras envasadas con los films mixtos al final del almacenamiento. Esto es coherente con la mayor permeabilidad al vapor de agua del PLA en comparación con los materiales multicapa mixtos, tal y como se ha comentado anteriormente.

Los valores de croma o saturación ( $C_{ab}^*$ ), descendieron ligeramente en todos los casos para todas las muestras envasadas con los materiales multicapa, mientras que el croma para las muestras control ascendió, significativamente a los 11 días de almacenamiento. En cuando a las muestras envasadas con PLA, la diferencia de saturación con respecto a las envasadas con los materiales multicapa convencionales no fue significativa ( $p > 0,05$ ).

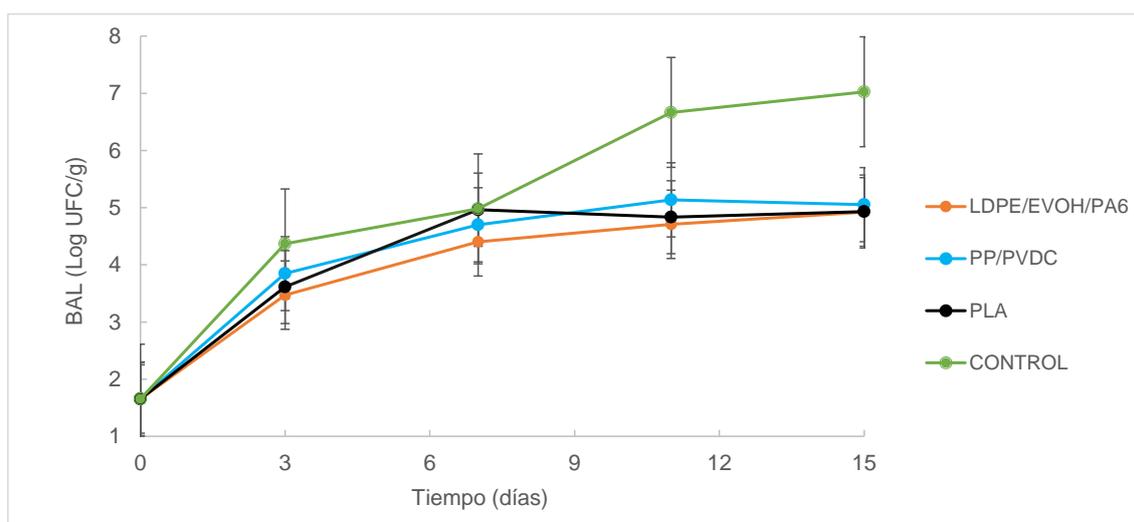
Los valores del tono, aumentaron significativamente en las muestras control durante todo el tiempo de almacenamiento debido al desarrollo de decoloraciones por efecto de la oxidación y el deterioro microbiano. Por el contrario, el tono inicial en las muestras envasadas con los materiales multicapa sufrió un aumento hasta día 3 y a partir de este momento se mantuvo constante, no detectándose diferencias significativas entre las muestras envasadas con PLA y las envasadas con LDPE/EVOH/PA6 y PP/PVDC. Así, los tres materiales de envase evaluados dieron lugar a cambios de tono significativamente menores que las muestras control.

Los niveles de oxidación lipídica fueron evaluados mediante el seguimiento de la formación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Las muestras control mostraron niveles de oxidación de 1,90 mg MDA/kg al final del almacenamiento. Valores similares fueron encontrados en otros estudios realizados con carne de cerdo en refrigeración a 4°C (Qin et al., 2013). Las muestras envasadas con los films multicapa presentaron valores medios de TBARS significativamente menores: 1,19 mg MDA/kg, 0,77 mg MDA/kg y 0,47 mg MDA/kg, para los films PLA, PP/PVDC y LDPE/EVOH/PA6, respectivamente. Los valores obtenidos son coherentes con las propiedades barrera al oxígeno de los materiales. Así, el envase con la menor permeabilidad al oxígeno (film LDPE/EVOH/PA6) dio lugar al menor nivel de oxidación lipídica (menor TBARS) y el de menor barrera al oxígeno (film PLA) dio lugar a los mayores valores de TBARS.

### 3.2.2 Análisis microbiológico

Los principales factores que determinan la vida útil de la carne de cerdo son la composición inicial de la flora bacteriana y el método de conservación. Las bacterias ácido lácticas (BAL) son el grupo dominante de microorganismos aislados de la carne y los productos cárnicos envasados al vacío (Xu et al., 2018)

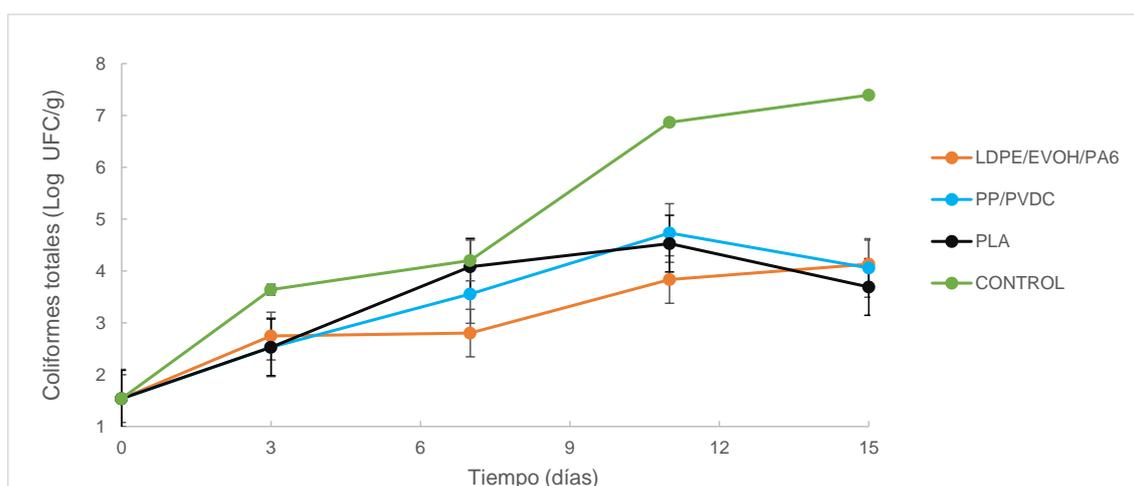
En la Figura 7 se muestra el crecimiento de BAL a lo largo del tiempo de almacenamiento.



**FIGURA 7.** Recuentos de bacterias ácido-lácticas (BAL) obtenidos para las muestras de carne de cerdo envasadas o sin envasar (control), durante 15 días a 5 °C, durante 15 días a 5 °C. Valores medios y desviación estándar.

El ANOVA mostró un efecto significativo tanto del tiempo del almacenamiento como del tipo de envase, así como la interacción entre ambos factores en los recuentos de BAL ( $p < 0,05$ ), siendo el factor “tiempo” el que tuvo una mayor influencia. Las muestras control fueron las que presentaron unos recuentos de BAL mayores, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto a las muestras envasadas con los diferentes materiales multicapa los a partir del día 11 de almacenamiento. En cuanto a las muestras envasadas con PLA, los recuentos de BAL se mantuvieron constantes a partir del séptimo día de almacenamiento, y no se observaron diferencias significativas con respecto a las muestras envasadas con los dos multicapas convencionales durante el almacenamiento.

Los recuentos microbianos de coliformes totales a lo largo del tiempo de almacenamiento se muestran en la Figura 8. El ANOVA mostró un efecto significativo tanto del tiempo del almacenamiento como del tipo de envase, así como la interacción entre ambos factores en los recuentos de coliformes totales ( $p < 0,05$ ).

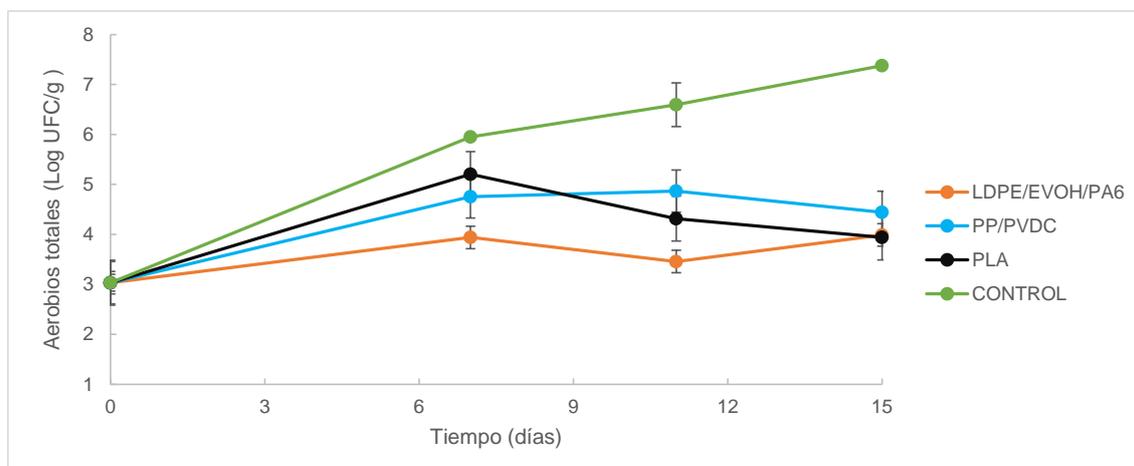


**FIGURA 8.** recuentos de coliformes totales obtenidos para las muestras de carne de cerdo envasadas o sin envasar (control), durante 15 días a 5 °C. Valores medios y desviación estándar.

Las muestras control presentaron los mayores recuentos de coliformes totales durante el almacenamiento, siendo las diferencias con respecto a las muestras envasadas con los films multicapa significativas a partir de los 11 días de almacenamiento. A tiempos 3, 7 y 11 se observan diferencias significativas entre las muestras envasadas con el material multicapa LDPE/EVOH/PA6, que presentaron los menores recuentos de coliformes totales. Al final del almacenamiento ( $t=15$  días), no hubo diferencias significativas entre las muestras envasadas con los materiales multicapa.

El recuento de aerobios totales se muestra en la Figura 9. El recuento de aerobios totales es un indicador microbiológico importante para la evaluación de la calidad sanitaria e inocuidad de la carne y es la norma sanitaria cuantitativa para identificar las condiciones y el grado de contaminación de la carne (Huang et al., 2013). En la normativa europea REGLAMENTO (CE) no 2073/2005 DE LA COMISIÓN, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, se establece que el nivel máximo aceptable de para el recuento de colonias aerobias totales en carne fresca de cerdo separada mecánicamente es

de 5,0 log ufc/g. Tal y como se observa en la Figura 9, dicho nivel se sobrepasó el séptimo día de almacenamiento en las muestras control, mientras que las envasadas con los diferentes envases multicapas mostraron valores ligeramente inferiores a 5,0 log ufc/g a los 15 días de almacenamiento en refrigeración.



**FIGURA 9.** Valores medios (e intervalos de 95% de LSD) de los recuentos de aerobios totales obtenidos para las muestras de carne de cerdo envasadas en cada uno de los films o sin envasar (control), durante 15 días a 5 °C.

El ANOVA mostró un efecto significativo tanto del tiempo del almacenamiento como del tipo de envase, así como la interacción entre ambos factores en los recuentos de aerobios totales ( $p < 0,05$ ), siendo el factor “tipo de envase” el que tuvo una mayor influencia. Las muestras control presentaron recuentos de aerobios totales significativamente mayores que las envasadas con los materiales multicapa a todos los tiempos de almacenamiento ( $p < 0,05$ ). Las muestras envasadas con los multicapas presentaron recuentos de aerobios totales que se mantuvieron constantes a partir de los 7 días de almacenamiento, no siendo significativas las diferencias por efecto de la naturaleza del envase utilizado.

Las muestras de carne envasadas con PLA se mostraron efectivas en cuanto a la evolución de la calidad microbiológica de la carne de cerdo durante el almacenamiento en refrigeración ya que no hubo diferencias significativas con respecto a las muestras envasadas con los materiales multicapa convencionales.

#### 4. CONCLUSIONES

Los films de PLA presentaron propiedades mecánicas típicas de materiales empleados en el envasado rígido de alimentos, mientras que los multicapa comerciales de LDPE/EVOH/PA6 y PP/PVDC mostraron valores más adecuados para su uso en envases flexibles. En términos de propiedades barrera, los multicapa LDPE/EVOH/PA6 ofrecieron los mejores resultados tanto para los vapores de agua y aroma, como oxígeno, mientras que la barrera del film multicapa de PLA fue entre 100 y 200 veces inferior, por su menor permeabilidad y espesor. Sin embargo, durante el análisis de conservación de la carne de cerdo, se pudo observar que el envase de PLA dio lugar a cambios de color y pH similares a los observados en los envases multicapa comerciales. Además, no

hubo diferencias significativas entre envases en cuanto al crecimiento microbiano al final del almacenamiento. El PLA se ha mostrado como un material de envase alternativo a los plásticos convencionales de difícil degradación y reutilización para la conservación de carne fresca de cerdo. No obstante, la pobre barrera al agua de este material limita su aplicación a productos en los que la pérdida de humedad durante el almacenamiento no sea factor limitante.

## REFERENCIAS

- Arrieta, M. P. *Films de PLA y PLA-PHB plastificados para su aplicación en envases de alimentos. Caracterización y análisis de los procesos de degradación*. 2014. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València.
- Artés, F., & Allende, A. (2015). *Processing Lines and Alternative Preservation Techniques to Prolong the Shelf-life of Minimally Lines and Alternative Preservation Processing long the Shelf-life of Minimally Fresh Processed to Pro Techniques Leafy Vegetables*. 70(5), 231–245.
- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standard designations: E96-95. In ASTM, Annual book of ASTM standards (pp. 406-413). Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard designations: D882. In Annual book of ASTM standards (pp. 162-170). Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials
- ASTM. (2002). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Standard designations: 3985-95. In Annual book of ASTM standards (pp. 472-477). Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Athayde, D. R., Flores, D. R. M., da Silva, J. S., Genro, A. L. G., Silva, M. S., Klein, B., Mello, R., Campagnol, P. C. B., Wagner, R., de Menezes, C. R., Barin, J. S., & Cichoski, A. J. (2017). Application of electrolyzed water for improving pork meat quality. *Food Research International*, 100(June), 757–763. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.009>
- Aznar, M., Ubeda, S., Dreolin, N., & Nerín, C. (2019). Determination of non-volatile components of a biodegradable food packaging material based on polyester and polylactic acid (PLA) and its migration to food simulants. *Journal of Chromatography A*, 1583, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.10.055>
- Baroni, L., Cenci, L., Tettamanti, M., & Berati, M. (2007). Evaluating the environmental impact of various dietary patterns combined with different food production systems. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(2), 279–286. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602522>
- Buntinx, M., Willems, G., Knockaert, G., Adons, D., Yperman, J., Carleer, R., & Peeters, R. (2014). Evaluation of the thickness and oxygen transmission rate before and after thermoforming mono- and multi-layer sheets into trays with variable depth. *Polymers*, 6(12), 3019–3043. <https://doi.org/10.3390/polym6123019>
- Chmiel, M., Słowiński, M., & Dasiewicz, K. (2011). Lightness of the color measured by computer image analysis as a factor for assessing the quality of pork meat. *Meat Science*, 88(3), 566–570. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.014>
- Daniloski, D., Petkoska, A. T., Galić, K., Ščetar, M., Kurek, M., Vaskoska, R., Kalevska, T., & Nedelkoska, D. N. (2019). The effect of barrier properties of polymeric films on the shelf-life of vacuum packaged fresh pork meat. *Meat Science*, 158(July), 107880. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107880>

- Domeño, Celia, et al. (2017). Safety by design of printed multilayer materials intended for food packaging. *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 34, no 7, p. 1239-1250.
- Dixon, John, et al. (2011) *Packaging materials: 9. multilayer packaging for food and beverages*. LSI Europe.
- Fan, X. J., Liu, S. Z., Li, H. H., He, J., Feng, J. T., Zhang, X., & Yan, H. (2019). Effects of *Portulaca oleracea* L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 147(March 2018), 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.022>
- Gerometta, M., Rocca-Smith, J. R., Domenek, S., & Karbowski, T. (2019). Physical and Chemical Stability of PLA in Food Packaging. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22471-2>
- Gürler, N., Paşa, S., & Temel, H. (2021). Silane doped biodegradable starch-PLA bilayer films for food packaging applications: Mechanical, thermal, barrier and biodegradability properties. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 000. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2021.05.030>
- Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F., & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research*, 40(1), 3–22. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.030>
- Huang, L., Zhao, J., Chen, Q., & Zhang, Y. (2013). Rapid detection of total viable count (TVC) in pork meat by hyperspectral imaging. *Food Research International*, 54(1), 821–828. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.011>
- Lagarón, J.-M. (2011). Multifunctional and nanoreinforced polymers for food packaging. *Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging*, 1–28. <https://doi.org/10.1533/9780857092786.1>
- Nofar, M., Sacligil, D., Carreau, P. J., Kamal, M. R., & Heuzey, M. C. (2019). Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 307–360. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.002>
- Quiles-Carrillo, L., Montanes, N., Pineiro, F., Jorda-Vilaplana, A., & Torres-Giner, S. (2018). Ductility and toughness improvement of injection-molded compostable pieces of polylactide by melt blending with poly( $\epsilon$ -caprolactone) and thermoplastic starch. *Materials*, 11(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ma11112138>
- Qin, Y. Y., Yang, J. Y., Lu, H. B., Wang, S. S., Yang, J., Yang, X. C., Chai, M., Li, L., & Cao, J. X. (2013). Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 312–316. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.07.018>
- Radusin, T., Torres-Giner, S., Stupar, A., Ristic, I., Miletic, A., Novakovic, A., & Lagaron, J. M. (2019). Preparation, characterization and antimicrobial properties of electrospun polylactide films containing *Allium ursinum* L. extract. *Food Packaging and Shelf Life*, 21(July), 100357. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100357>
- Reglamento (CE) n o 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 , relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios OJ L 338, 22.12.2005, p. 1–26
- Robertson, G. L. (2016). Packaging and food and beverage shelf life. In *The Stability and Shelf Life of Food*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00003-4>

- Rojas-Lema, S., Quiles-Carrillo, L., Garcia-Garcia, D., Melendez-Rodriguez, B., Balart, R., & Torres-Giner, S. (2020). Tailoring the properties of thermo-compressed polylactide films for food packaging applications by individual and combined additions of lactic acid oligomer and hallosite nanotubes. *Molecules*, 25(8), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules25081976>
- Sempels, C., & Hoffmann, J. (2013). Circular Economy. *Sustainable Innovation Strategy*, 6–9. <https://doi.org/10.1057/9781137352613.0008>
- Siu, G., & Draper, H.H. (1978). A survey of malonaldehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science*, 43,1147-1149.
- Torres-Giner, S., Gil, L., Pascual-Ramírez, L., & Garde-Belza, J. A. (2018). Packaging: Food waste reduction. *Encyclopedia of Polymer Applications*; Mishra, M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA,3, 1990-2009.
- Trinh, B. M., Chang, C. C., & Mekonnen, T. H. (2021). Facile fabrication of thermoplastic starch/poly (lactic acid) multilayer films with superior gas and moisture barrier properties. *Polymer*, 223(January), 123679. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.123679>
- Xu, F., Wang, C., Wang, H., Xiong, Q., Wei, Y., & Shao, X. (2018). Antimicrobial action of flavonoids from *Sedum aizoon* L. against lactic acid bacteria in vitro and in refrigerated fresh pork meat. *Journal of Functional Foods*, 40, 744–750. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.030>
- Wang, G., Liu, Y., Yong, H., Zong, S., Jin, C., & Liu, J. (2021). Effect of ferulic acid-grafted-chitosan coating on the quality of pork during refrigerated storage. *Foods*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061374>