



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS
GRASOS ENVASADOS EN FILMS DE
POLIHIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO
REFORZADOS CON CELULOSA MICROFIBRILADA

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

AUTOR/A: Sánchez San Millán, Rodrigo

Tutor/a: Vargas Colás, M^a Desamparados

Cotutor/a: Torres Giner, Sergio

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS GRASOS ENVASADOS EN FILMS DE POLIHIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO REFORZADOS CON CELULOSA MICROFIBRILADA.

RESUMEN:

Los biopolímeros surgen como respuesta a la actual demanda del sector del envasado de los alimentos de nuevos materiales procedentes de fuentes renovables y biodegradables. En trabajos previos se han desarrollado y caracterizado películas de polihidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV) que fueron reforzadas con celulosa microfibrilada (CMF) atomizada y, posteriormente, compatibilizada mediante un proceso de extrusión reactiva. El presente trabajo pretende evaluar los films de PHBV/CMF resultantes como nuevo material de envasado, empleando para tal fin la formulación más óptima. Para ello, los films desarrollados serán empleados como tapa para conservar dos tipos de alimentos, aceite de girasol y carne picada de cerdo, comparándolos con un film multicapa barrera basado en EVOH y poliamida 6. Se evaluará la vida útil de estos dos alimentos mediante el estudio de las propiedades fisicoquímicas, pH, oxidación lipídica, color y microbiología. Adicionalmente, se determinará la migración de los films en dos simulantes alimentarios, correspondientes a los dos tipos de alimentos evaluados.

Las películas biodegradables a partir de PHBV reforzados con microfibras de celulosa (CMF) demostraron ser seguros para su aplicación en productos cárnicos y aceite de girasol, ya que no se superó el nivel de migración global en ninguno de los dos simulantes evaluados (A: etanol al 10% v/v y D2: aceite vegetal) Las películas biodegradables fueron efectivas en la preservación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de las muestras de carne de cerdo picada durante el almacenamiento a 5°C, a pesar de que estas películas mostraron una mayor permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno al compararse con la película comercial multicapa de alta barrera probada. Todas las películas biodegradables evaluadas mostraron un menor rendimiento en la prevención de la oxidación del aceite de girasol en comparación con la película multicapa comercial en las condiciones de almacenamiento acelerado elegidas para promover la rápida oxidación de las muestras. Entre las películas biodegradables de PHBV, las películas reforzadas con CMF con y sin compatibilizantes mostraron el mejor rendimiento en la prevención de la oxidación.

PALABRAS CLAVE: polihidroxibutirato-co-hidroxivalerato, microcelulosa, envasado sostenible, conservación de alimentos, Economía Circular.

AUTOR: Rodrigo Sánchez San Millán

TUTORA: María Vargas Colás

COTUTOR: Sergio Torres Giner

Valencia, 10 de septiembre de 2022.

SHELF-LIFE EVALUATION OF FOOD PACKAGED IN POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) FILMS REINFORCED WITH MICROFIBRILATED CELLULOSE.

ABSTRACT:

Biopolymers arise in response to the current demand in the food packaging sector for new materials from renewable and biodegradable sources. During previous works, green composites of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) reinforced with microfibrillated cellulose (CMF) obtained by atomization and, subsequently, compatibilized through a reactive extrusion process were developed and characterized. The present work aims to evaluate the resulting PHBV/CMF films as a novel packaging material, using the most optimal formulation. To this end, the developed films were applied as packaging materials to preserve two types of food, sunflower oil, and minced pork meat, comparing them with a multilayer barrier film based on EVOH and polyamide 6. The shelf-life of these two foodstuffs was evaluated throughout storage. In addition, the overall migration of the green composites into two food simulants, corresponding to the two types of food evaluated, was determined. PHBV-based green composites reinforced with cellulose microfibers (CMF) proved to be safe for their application in meat products and sunflower oil since the overall migration level was not exceeded in any of the two evaluated simulants (A: 10% v/v ethanol and D2: vegetable oil). The green composites were effective in preserving the physicochemical and microbiological quality of minced pork meat samples during storage at 5°C, even though these films showed higher water vapor and oxygen permeances than the tested commercial high-barrier multilayer film. All evaluated green composites showed poorer performance in preventing sunflower oil oxidation as compared to the commercial multilayer film in the accelerated storage conditions chosen to promote rapid oxidation of the samples. Among the PHBV green composites, films reinforced with CMF with and without compatibilizer showed the best performance in preventing oxidation.

KEYWORDS: poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), microcellulose, sustainable packaging, food preservation, Circular Economy.

AUTHOR: Rodrigo Sánchez San Millán

TUTOR: María Vargas Colás

COTUTOR: Sergio Torres Giner

Valencia, 10 de septiembre de 2022.

AVALUACIÓ DE LA VIDA ÚTIL D'ALIMENTS ENVASATS AMB FILMS DE POLIHIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERAT REFORÇATS AMB CEL·LULOSA MICROFIBRILADA.

RESUM:

Els biopolímers sorgeixen com a resposta a l'actual demanda del sector de l'envasament dels aliments de nous materials procedents de fonts renovables i biodegradables. En treballs previs s'han desenvolupat i caracteritzat pel·lícules de polihidroxibutirat-co-hidroxiclaurat (PHBV) que van ser reforçades amb cel·lulosa microfibrilada (MFC) atomitzada i, posteriorment, compatibilitzada mitjançant un procés d'extrusió reactiva. Aquest treball pretén avaluar els films de PHBV/MFC resultants com a nou material d'envasament, emprant amb aquesta finalitat la formulació més òptima. Per això, els films desenvolupats seran emprats com a tapa per conservar dos tipus d'aliments, oli de gira-sol i carn picada porc, comparant-los amb un film multicapa barrera basat en polímers petroquímics. S'avaluarà la vida útil d'aquests dos aliments mitjançant l'estudi de les propietats fisicoquímiques, pH, oxidació lipídica, color i microbiologia. Addicionalment, es determinarà la migració dels films a dos simulants alimentaris, corresponents als dos tipus d'aliments avaluats.

Els Films desenvolupats de PHBV/MFC van demostrar ser segurs per a la seua aplicació en productes carnis i oli de gira-sol ja que el nivell de migració global no va ser excedit en cap dels dos simulants avaluats (A: 10% v/v d'etanol i D2: oli vegetal). Els compostos biodegradables van ser efectius en la preservació de la qualitat fisicoquímica i microbiològica de les mostres de carn de porc picada durant l'emmagatzematge a 5 °C, a pesar que aquestes pel·lícules van mostrar una major permeabilitat al vapor d'aigua i a l'oxigen al comparara amb la pel·lícula comercial multicapa d'alta barrera provada. Tots els compostos biodegradables avaluats van mostrar un rendiment més baix en la prevenció de l'oxidació de l'oli de gira-sol en comparació amb la pel·lícula multicapa comercial en les condicions d'emmagatzematge accelerat triades per a promoure l'oxidació ràpida de les mostres. Entre els compostos biodegradables de PHBV, les pel·lícules reforçades amb CMF amb i sense compatibilizantes van mostrar el millor compliment en la prevenció de l'oxidació.

PARAULES CLAU: polihidroxibutirat-co-hidroxiclaurat, microcel·lulosa, envasat sostenible, conservació d'aliments, Economia Circular.

AUTOR: Rodrigo Sánchez San Millán

TUTORA: María Desamparados Vargas

COTUTOR: Sergio Torres Giner

València 10 de septiembre de 2022.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS.

Dedico principalmente este trabajo fin de máster, así como toda mi vida académica y posterior vida laboral, a mis padres, a los cuales agradezco y reconozco todo su apoyo e implicación personal en todos los momentos de mi vida y todo el esfuerzo que han realizado para que yo haya llegado hasta aquí.

Gracias a toda mi familia y amigos por acompañarme en este proceso y hacerlo un poquito más sencillo.

Gracias a Claudia, por aparecer para quedarse y darme grandes consejos.

Gracias a Eva por haber estado pendiente y ayudando durante todo el proceso de desarrollo de este trabajo. Por ser pieza fundamental de esta investigación.

Dedicárselo a mi abuela Adelia, que, aunque no lo haya podido ver, sigue estando presente.

INDICE.

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCION..... | 1 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 2 |
| 2.1. MATERIALES..... | 2 |
| 2.2. PREPARACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES A BASE DE PHBV..... | 2 |
| 2.3. PRUEBAS GLOBALES DE MIGRACIÓN..... | 3 |
| 2.4. APLICACION DE LAS PELÍCULAS PARA EL ENVASADO DE CARNE DE CERDO PICADA..... | 3 |
| 2.5. APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS PARA EL ENVASADO DE ACEITE DE GIRASOL..... | 4 |
| 2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 5 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 5 |
| 3.1. MIGRACIÓN GLOBAL EN SIMULANTES ALIMENTARIOS..... | 5 |
| 3.2. EFECTO DE LAS PELÍCULAS EN LA CALIDAD DE CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE CERDO PICADA..... | 5 |
| 3.3. EFECTO DE LAS PELÍCULAS BIODEGRADABLES EN LA CALIDAD DE CONSERVACIÓN DEL ACEITE DE GIRASOL..... | 10 |
| 4. CONCLUSIONES..... | 11 |

INDICE DE TABLAS.

| | |
|---|---|
| Tabla 1. Niveles globales de migración de los compuestos biodegradables en dos simulantes alimeentarios..... | 5 |
| Tabla 2. Cambios en el pH, la pérdida de peso y los TBARS de las muestras de carne de cerdo picada almacenadas en frío y envasadas en las películas biodegradables y en la película comercial multicapa (WK140). Se incluyen las propiedades de barrera al agua y al oxígeno de cada película, según estudios anteriores. Valores medios \pm desviación estándar..... | 6 |
| Tabla 3. Evolución de los parámetros de color en términos de luminosidad (L^*), croma (Cab *), tono (hab *); y diferencia total de color (ΔE_{ab}^*) de las muestras de carne de cerdo picada almacenada en frío y envasada con las películas biodegradables y la película comercial multicapa (WK140). Se incluye el parámetro de color correspondiente de cada película obtenido en estudios anteriores. Valores medios \pm desviación estándar..... | 7 |

INDICE DE FIGURAS.

| | |
|--|----|
| Figura 1. Cambios en los recuentos de coliformes aeróbicos totales (TAC) y bacterias lácticas (LAB) en muestras de carne de cerdo picada almacenada en frío y envasada en las películas biodegradables y en el multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%..... | 9 |
| Figura 2. Evolución de los valores de peróxido en las muestras de aceite de girasol durante las condiciones de almacenamiento acelerado que promueven la oxidación, afectadas por el envasado con las películas biodegradables y película multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%..... | 10 |
| Figura 3. Evolución de los dienos conjugados y los trienos en las muestras de aceite de girasol durante las condiciones de almacenamiento acelerado en función del envasado con las películas biodegradables y película multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%..... | 11 |

1. INTRODUCCION.

La conservación de los alimentos tiene como objetivo prolongar la vida útil y ofrecer productos más seguros a los consumidores utilizando diferentes materiales y tecnologías como los sistemas de envasado avanzados (Robertson, 2016). En este sentido, las soluciones de envasado basadas en plásticos (polímeros y aditivos) han contribuido ampliamente a la conservación de los alimentos debido a su transparencia, flexibilidad, bajo coste, facilidad de procesamiento, bajo peso y gran versatilidad. Además, los materiales de envasado pueden proporcionar otras funciones al producto alimentario, como propiedades activas y bioactivas, comodidad y comunicación (Radusin et al., 2019). Sin embargo, la mayoría de los materiales convencionales utilizados para el envasado de alimentos se basan en polímeros petroquímicos no biodegradables que causan altos impactos ambientales relacionados con su eliminación; por lo tanto, el desarrollo de estrategias sostenibles representa un desafío fundamental en la industria del envasado de alimentos. Un posible enfoque alternativo de envasado son los biopolímeros para sustituir los plásticos no biodegradables derivados de fuentes no renovables (Hottle et al., 2017). Los biopolímeros son macromoléculas que se obtienen de fuentes naturales o son biodegradables o presentan ambas características, siendo compostados en instalaciones industriales y, en algunos casos, en condiciones de compostaje doméstico y en entornos naturales (Torres-Giner et al., 2021). Ejemplos de biopolímeros son los poliésteres biodegradables como los polihidroxialcanoatos (PHAs), que son polímeros alifáticos semicristalinos derivados de fuentes renovables que son biodegradables tanto en instalaciones de compostaje como en el medio ambiente (Arcos-Hernández et al., 2013). El poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) es el PHA más común que ha sido explorado para ser utilizado como material termoplástico biodegradable ya que este homopolímero tiene propiedades que son similares a las del polipropileno (Bucci et al., 2007). El PHB presenta una alta cristalinidad y una baja estabilidad térmica, dando lugar a materiales rígidos y quebradizos, lo que limita su uso en aplicaciones de envasado de alimentos (Torres-Giner et al., 2018). Sin embargo, el PHB forma un copolímero con 3-hidroxivalerato (3HV), es decir, poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV), que muestra mayor ductilidad y menor cristalinidad siendo su flexibilidad y punto de fusión modulados en función del porcentaje de unidades de 3HV (Laycock et al., 2014).

Una posible estrategia para mejorar las prestaciones de los materiales de envasado basados en PHBV es el uso de refuerzos como los micro y nanoestructurados de celulosa, como las microfibras de celulosa (CMFs), que son renovables y biodegradables (Tajeddin, 2014), y permiten la obtención de películas biodegradables con mejores propiedades de resistencia mecánica y barrera al oxígeno. En este sentido, un estudio anterior ha desarrollado una técnica innovadora y escalable para preparar composites biodegradables basados en PHBV y CMFs, siendo las formulaciones con el contenido óptimo de CMFs compatibilizadas con diferentes aditivos reactivos para mejorar sus propiedades para potenciales usos en aplicaciones de envasado de alimentos (Freitas et al., 2022). Sobre la base de las propiedades de barrera investigadas de estos compuestos biodegradables, se prepararon formulaciones a base de PHBV conteniendo o no 5 p/p de CMFs con y sin compatibilizantes y se evaluó su desempeño como material de envasado para carne de cerdo picada y aceite de girasol.

La carne de cerdo puede deteriorarse durante el almacenamiento debido al deterioro microbiano, la deshidratación de la superficie y la oxidación de la mioglobina y los lípidos, lo que podría disminuir su valor nutricional y los cambios en la apariencia y la producción de malos sabores y olores (Mazzola et al., 2019). El aceite de girasol es rico en ácidos grasos insaturados, principalmente oleico y linoleico (Khan et al., 2015), los cuales están asociados a la oxidación que puede modificar las propiedades organolépticas del aceite, causando pérdidas en el valor nutricional y la calidad, afectando así su vida útil (Kucuk y Caner, 2005). Para prevenir y retrasar la oxidación de los lípidos en la carne de cerdo y en el aceite de girasol durante el almacenamiento, una posible estrategia es utilizar envases que reduzcan o limiten la exposición

al oxígeno (Cenci-Goga et al., 2020). En este sentido, el desarrollo de materiales biodegradables para este tipo de productos alimentarios es un reto que requiere el uso de envases con baja permeabilidad al oxígeno, como las mencionadas películas biodegradables de PHBV.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la viabilidad del uso de compuestos biodegradables a base de PHBV reforzados con CMF para conservar productos alimentarios. Para ello, se evaluó la calidad y la vida útil de la carne de cerdo picada y el aceite de girasol envasados con las películas biodegradables a lo largo del almacenamiento en comparación con un material de envasado multicapa comercial utilizado habitualmente en la industria del envasado de alimentos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Materiales.

Tianan Biologic Materials (Ningbo, China) suministró el PHBV comercial de grado alimentario como ENMAT Y1000P en forma de pellets. La fracción de 3HV en el copoliéster es de ~2 mol%, y el peso molecular (MW) es de ~ $2,8 \times 10^5$ g/mol. La suspensión acuosa, de Exilva tipo F01-V, fue proporcionada por Borregaard ChemCell (Barcelona, España) en forma de gel con un contenido de nanocelulosa del 10 % en peso. El polvo de CMF se preparó por atomización, tal y como describen Freitas et al. (2022).

Los compatibilizantes isocianurato de triglicidilo (TGIC, referencia 379506), con un MW de 297,26 g/mol, y peróxido de dicumilo (DCP, referencia 329541), con un MW de 270,37 g/mol y una pureza del 98%, se adquirieron en Sigma-Aldrich S.A. (Madrid, España).

La película comercial multicapa de alta barrera (WK140), basada en poliamida 6 (PA6) y poli(etileno-coalcohol vinílico) (EVOH), con un espesor total de 140 μm , fue suministrada por WK THOMAS (Barcelona, España).

La carne de cerdo picada (Consum, Valencia) y el aceite de girasol (Hacendado, Mercadona, Valencia) se compraron en supermercados locales. Los medios microbiológicos: agua de peptona tamponada, agar rojo biliar violeta (VRB) y agar para recuento de placas (PCA) fueron proporcionados por Scharlab (Barcelona, España), y el agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) fue suministrado por Lankem-Labbox (Barcelona, España).

2.2. Preparación de películas biodegradables a base de PHBV.

Los pellets de PHBV se secaron en una estufa de vacío (TEM-TJP Selecta, S.A., Barcelona, España) a 60 °C durante 4 horas. A continuación, los gránulos secos y el polvo de CMFs seco se colocaron en un disector que contenía pentóxido de fósforo (P_2O_5 , 99% de pureza, referencia 214701, Sigma-Aldrich, S.A.) a 25 °C durante una semana para eliminar el agua restante. Los gránulos de PHBV se mezclaron en fundido con CMF al 5 % en peso. El proceso de mezcla en fundido se llevó a cabo mediante un mezclador interno (HAAKE™ PolyLab™ QC, Thermo Fisher Scientific, Herzogenaurach, Alemania) a una temperatura de 170 °C con una velocidad de rotor de 50 rpm. El tiempo de mezclado se fijó en 5 minutos tras analizar la estabilidad del PHBV puro durante el mezclado en fusión. La cantidad procesada para cada composición fue de aproximadamente 50 g. Se utilizaron muestras de PHBV con CMF y compatibilizantes (TGIP y DCP) para producir los composites biodegradables (PHBV-CMF-COMP). Las muestras sin CMF (PHBV-COMP) y compatibilizantes (PHBV-CMF y PHVB) se prepararon como materiales de control.

Las muestras obtenidas del mezclador interno se molieron en frío para tener el producto en un formato más fácil de manipular para su posterior prensado. Cada masa se molió en un molino universal (modelo M20, IKA, Staufen, Alemania). El material en polvo procedente del proceso

de molienda se almacenó en un desecador a 25 °C y 0% de humedad relativa (HR) con gel de sílice durante una semana. Fue necesario utilizar aproximadamente 2.5 g de polvo de PHBV para obtener un tamaño de película de 10 cm x 10 cm con un espesor de aproximadamente 130 µm. El moldeo por compresión se realizó en una prensa hidráulica (Modelo LP20, Labtech Engineering, Bangpoo, Tailandia) colocando las muestras entre dos placas y dentro de un molde cuadrado de teflón. Las muestras se precalentaron durante 3 minutos a 200 °C sin presión, luego se prensaron durante 4 minutos a 200 °C y 100 bares y, finalmente, se enfriaron durante 3 minutos hasta alcanzar aproximadamente 80 °C. Las películas resultantes se colocaron separadas entre sí por papel absorbente de laboratorio y se almacenaron en un desecador con P₂O₅ (0% HR) a 25 °C. Todas las muestras de películas permanecieron en el desecador durante un mínimo de 15 días para eliminar la humedad restante y reducir el efecto del envejecimiento físico del PHBV antes de utilizarlas como materiales de embalaje.

2.3. Pruebas globales de migración.

La migración total de las películas biodegradables se evaluó en dos simulantes alimentarios, etanol al 10% v/v (simulante A) y un aceite vegetal (simulante D2), sumergiendo 0,5 dm² de muestra de película en 50 mL de simulante a 40°C durante 10 días. La migración total en etanol al 10% se evaluó mediante el seguimiento de la pérdida de peso de la muestra, mientras que en el aceite vegetal se obtuvo por GC-FID, según las normas UNE-EN 1186-2 y UNE-EN 1186-3, respectivamente.

2.4. Aplicación de las películas para el envasado de carne de cerdo picada.

Los dispositivos y las superficies de trabajo se desinfectaron con etanol al 96% (Panreac S.A, Barcelona, España), y cada película se esterilizó mediante la exposición a la luz ultravioleta (UV) durante una hora en una cabina de flujo laminar (Bio II Advance, Telstar, Terrasa, España).

Las muestras de carne de cerdo picada (10 g) se colocaron en vasos de aluminio de 6,5 cm de diámetro que se cerraron con una tapa obtenida a partir de cada una de las diferentes películas o con las películas comerciales utilizando un pegamento adhesivo instantáneo extrafuerte (Pattex Crocodile, Amazon, España). Estos procedimientos se llevaron a cabo en una cabina de flujo laminar (Bio II Advance, Telstar, Terrasa, España). Todas las muestras se almacenaron a 5 °C y 48% de HR durante 3, y 7 días, tras los cuales se pesaron para determinar la pérdida de peso de la muestra con respecto al peso inicial utilizando una balanza analítica (Sartorius, Goettingen, Alemania). Asimismo, a lo largo de la conservación en frío, se controló el pH, la oxidación de los lípidos, los cambios de color y los recuentos microbianos en las muestras de carne de cerdo envasada.

El pH se determinó utilizando un medidor digital de pH mediante la inserción directa de la sonda de electrodos (Mettler-Toledo GmbH, Schwerzenbach, Suiza) en la muestra de carne de cerdo. Se realizaron cinco mediciones para cada tratamiento de envasado y tiempo.

La pérdida de peso de las muestras se cuantificó en función del tiempo de almacenamiento con una balanza (ME36S, Sartorius, precisión de ± 0,0001 g).

La estabilidad oxidativa de la carne de cerdo se midió por triplicado determinando las sustancias reactivas al Ácido tiobarbitúrico (TBAR) el día 0 y después de siete días de almacenamiento, tal como describen Siu y Draper (1978). Se introdujeron 10 g de cada muestra en bolsas (Stomacher 440 Classic Strainer Bags, Worthing, Reino Unido) con 50 mL de agua destilada y se homogeneizaron durante 2 minutos utilizando un homogeneizador (Masticator Paddle blender, IUL Instruments, Barcelona, España). A continuación, se añadieron 50 mL de TCA al 10 %v/v, y el homogeneizado se filtró con una bomba de vacío utilizando papel de filtro Whatman nº 1 (Whatman Nº1, Whatman International Ltd, Kent, Reino Unido). A continuación, se añadieron 8 mL del filtrado claro a 2 mL de reactivo TBA 0,06 M y se incubaron durante 90 minutos a 80°C.

La absorbancia se leyó a 532 nm, y los resultados se expresaron como mg de malonaldehído (MDA) por kg de muestra de carne.

Las coordenadas de color CIE L* a* b* de la carne de cerdo envasada se obtuvieron utilizando el iluminante D65/ 10º observador a partir de los espectros de reflexión de la superficie de la muestra medidos en seis puntos aleatorios utilizando el colorímetro de espectro MINOLTA (modelo CM-5, Minolta Co., Tokio, Japón). También se determinaron los parámetros de color, croma (Cab*) y tono (hab*), utilizando las ecuaciones (1) y (2), respectivamente. La diferencia total de color después de las muestras de carne envasada durante diferentes tiempos con respecto al día 0 se calculó mediante la ecuación (3). Se analizaron por duplicado tres muestras de carne de cerdo envasada con cada película de envasado diferente después de cada tiempo de almacenamiento.

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

Los análisis microbiológicos de las muestras de carne de cerdo envasada se llevaron a cabo tras diferentes tiempos de almacenamiento (0, 3 y 7 días). Un total de 10 g de muestras de carne se extrajeron asépticamente del contenedor en la cabina de flujo laminar (Bio II Advance, Telstar, Terrassa, España) 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 Stomacher se homogeneizaron durante 3 minutos utilizando un homogeneizador (IUL Instruments, Barcelona, España), y el homogeneizado se diluyó entonces 10 veces en serie utilizando TSB y se utilizó para enumerar los recuentos de viables totales, coliformes totales y bacterias acidolácticas. Los recuentos de viables totales y coliformes totales se determinaron en placas PCA y VRB, respectivamente, tras incubación a 37 °C durante 48h. Las bacterias acidolácticas se enumeraron utilizando placas MRS después de incubarlas a 30 °C durante 72h. Tras la incubación, se contaron todas las colonias y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g). Todas las pruebas microbianas se realizaron por triplicado.

2.5. Aplicación de las películas para el envasado de aceite de girasol.

El aceite de girasol (50 mL) se colocó en vasos de aluminio de 6,5 cm de diámetro que se cerraron con una tapa fabricada con las diferentes películas biodegradables o la película comercial utilizando un pegamento adhesivo instantáneo extrafuerte (Pattex Crocodile, Amazon, España). Todas las muestras se almacenaron a 30 °C y 53 %RH y se expusieron a luz fluorescente a una intensidad de 1000-1500 lux (medida con un Luxómetro digital; modelo RS Pro ILM1332A, RS Components, Madrid, España). La estabilidad oxidativa del aceite de girasol se midió en términos de valor de índice de peróxidos (PV) y contenido de dienos y trienos conjugados después de 0, 4, 11 y 21 días de almacenamiento.

Para determinar el PV de las muestras, se empleó el método titrimétrico utilizando un valorador automático (Titrande, Metrohm Ion Analysis, Suiza). Para ello, se disolvió 1 g de aceite de girasol en 10 mL de disolvente (relación de volumen ácido acético glacial:1-decanol de 3:2, que contenía 10-15 mg L⁻¹ de yodo) y se mezcló con 200 µL de una solución sobresaturada de KI. La mezcla realizada se mantuvo en un lugar oscuro durante 1 min. A continuación, se añadieron 50 mL de agua destilada y la solución se valoró con 0,01M o 0,001M de Na₂S₂O₃, según el PV previsto.

También se preparó una muestra de control en blanco, sin aceite de girasol, siguiendo el mismo procedimiento descrito. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Los dienos y trienos conjugados se determinaron mediante un método espectrofotométrico, de acuerdo con el Reglamento Europeo EC2568/91 de la Comisión de la Unión Europea (1991). La absorbancia de las muestras debidamente diluidas en isooctano se midió a las longitudes de onda de 232 nm y 268 nm para determinar los dienos conjugados y los trienos, respectivamente (espectrofotómetro Evolution 201 VisibleUV, ThermoScientific, Alemania).

2.6. Análisis estadístico.

Los análisis estadísticos de los datos se realizaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Centurion XVII-X64 (Manugistics Corp., Rockville, Md.). Se utilizó un ANOVA de una vía y otro multifactorial para analizar la influencia del tipo de envase y el tiempo de almacenamiento en las propiedades de la carne y el aceite envasado. Se utilizó el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher con un nivel de confianza del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Migración global en simulantes alimentarios.

La migración de los componentes del envase al alimento es un problema importante en los materiales en contacto con los alimentos, especialmente los que llevan nano y microfibras. Se seleccionó el etanol 10% v/v y aceite vegetal para simular la carne de cerdo picada y el aceite de girasol, respectivamente.

Los niveles globales de migración en los dos simulantes evaluados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles globales de migración de los compuestos biodegradables en dos simulantes alimentarios.

| Película | Etanol 10% v/v (mg/dm²) | Aceite vegetal (mg/dm²) |
|------------------|---|---|
| PHBV | < 2 | < 3 |
| PHBV –CMF | < 2 | < 3 |
| PHBV- CMF – COMP | 2.8 | < 3 |

Las condiciones que se utilizaron en las pruebas de migración total abarcan el contacto del material de envasado con los alimentos durante todos los periodos de almacenamiento prolongado a temperatura ambiente o inferior, incluyendo el calentamiento a 70 °C durante 2 horas o el calentamiento a 100 °C durante 15 min. Todas las películas evaluadas mostraron niveles de migración total inferiores al límite legal para materiales en contacto con alimentos de 10 mg de constituyentes totales del film liberados por dm² de superficie de contacto con alimentos (Reglamento 10/2011, Comisión Europea, 2011).

3.2. Efecto de las películas en la calidad de conservación de la carne de cerdo picada.

La Tabla 2 muestra los cambios en el pH, la pérdida de peso y los TBARS de la carne de cerdo picada envasada durante el almacenamiento. El pH inicial de las muestras de carne de cerdo fue de $5,43 \pm 0,11$, que está en el rango de los valores previamente obtenidos para muestras de carne de cerdo fresca (Wang et al., 2021). Como era de esperar, los valores de pH de la carne aumentaron durante el almacenamiento debido al aumento del contenido de bases nitrogenadas resultante de la proteólisis causada por la actividad de los microorganismos

(Daniloski et al., 2019). Este aumento, que fue menor en las muestras envasadas con la película comercial (WK140), no se vio afectado significativamente por ninguna de las películas evaluadas. Los menores valores de pH observados en las muestras envasadas con el film comercial pueden explicarse por su menor permeabilidad al oxígeno ($2,74 \times 10^8 \text{ m}^3 \cdot \text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), (Hernández-García, 2022) en comparación con la barrera al oxígeno de las películas biodegradables desarrolladas, lo que podría ralentizar la actividad de los microorganismos de deterioro. Esto último también está en consonancia con el menor nivel de oxidación y la reducción de los recuentos microbianos totales observados en estas muestras, como se describe más adelante. Hernández-García et al. (2022) obtuvieron resultados similares en lonchas de carne de cerdo envasadas en películas multicapa de polilactida.

Tabla 2. Cambios en el pH, la pérdida de peso y los TBARS de las muestras de carne de cerdo picada almacenadas en frío y envasadas en las películas biodegradables y en la película comercial multicapa (WK140). Se incluyen las propiedades de barrera al agua y al oxígeno de cada película, según estudios anteriores. Valores medios \pm desviación estándar.

| Película (propiedades de barrera) | 0 d | 3 días | 7 días |
|---|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | pH | | |
| PHBV (OP* = 2.09×10^{19}) | 5.43 \pm 0.11 ^{a,2} | 5.67 \pm 0.15 ^{a,2} | 6.00 \pm 0.06 ^{a,1} |
| PHBV-COMP (OP* = 2.70×10^{19}) | 5.43 \pm 0.11 ^{a,3} | 5.61 \pm 0.03 ^{a,2} | 5.94 \pm 0.17 ^{ab,1} |
| PHBV-CMF (OP* = 1.24×10^{19}) | 5.43 \pm 0.11 ^{a,2} | 5.59 \pm 0.09 ^{a,12} | 5.82 \pm 0.16 ^{ab,1} |
| PHBV-CMF-COMP (OP* = 0.98×10^{19}) | 5.43 \pm 0.11 ^{a,2} | 5.56 \pm 0.07 ^{a,12} | 5.90 \pm 0.30 ^{a,1} |
| WK140 (OP** = $2,74 \times 10^8$) | 5.43 \pm 0.11 ^{a,1} | 5.47 \pm 0.12 ^{a,1} | 5.60 \pm 0.20 ^{b,1} |
| | Pérdida de peso (%) | | |
| PHBV (WVP* = 1.84×10^{15}) | - | 0.562 \pm 0.001 ^{a,2} | 1.117 \pm 0.008 ^{b,1} |
| PHBV-COMP (WVP* = 5.69×10^{15}) | - | 0.483 \pm 0.002 ^{b,2} | 1.488 \pm 0.003 ^{a,1} |
| PHBV-CMF (WVP* = 3.29×10^{15}) | - | 0.412 \pm 0.001 ^{c,2} | 1.489 \pm 0.006 ^{a,1} |
| PHBV-CMF-COMP (WVP* = 3.29×10^{15}) | - | 0.408 \pm 0.001 ^{d,2} | 0.935 \pm 0.002 ^{c,1} |
| WK140 (WVP** = 7.94×10^8) | - | 0.082 \pm 0.001 ^{e,2} | 0.132 \pm 0.002 ^{d,1} |
| | TBARS (mg MDA/kg) | | |
| PHBV (OP* = 2.09×10^{19}) | 0.21 \pm 0.09 ^{a,2} | - | 1.08 \pm 0.08 ^{a,1} |
| PHBV-COMP (OP* = 2.70×10^{19}) | 0.21 \pm 0.09 ^{a,2} | - | 1.18 \pm 0.05 ^{a,1} |
| PHBV-CMF (OP* = 1.24×10^{19}) | 0.21 \pm 0.09 ^{a,2} | - | 0.90 \pm 0.05 ^{b,1} |
| PHBV-CMF-COMP (OP* = 0.98×10^{19}) | 0.21 \pm 0.09 ^{a,2} | - | 0.78 \pm 0.05 ^{c,1} |
| WK140 (OP** = $2,74 \times 10^8$) | 0.21 \pm 0.09 ^{a,2} | - | 0.38 \pm 0.06 ^{d,1} |

Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre las muestras para el mismo tiempo de almacenamiento (a-e) o debido al tiempo de almacenamiento para la misma muestra (1-3) ($p < 0,05$).

WVP = permeabilidad al vapor de agua ($\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$); OP = permeabilidad al oxígeno ($\text{m}^3 \cdot \text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$).

*Freitas et al., 2022; **Hernández-García et al., 2022.

La pérdida de peso de la carne de cerdo durante el almacenamiento también se indica en la Tabla 2. La película comercial multicapa dio lugar a una pérdida de peso significativamente menor ($p < 0,05$) durante el almacenamiento en comparación con las muestras envasadas con las películas biodegradables. Esta variación de peso, que puede estar relacionada con la pérdida de agua, es coherente con las propiedades de barrera al vapor de agua de los materiales de envasado evaluados. La menor pérdida de peso se detectó en las muestras envasadas con el film multicapa comercial, lo que demuestra las mejores propiedades de barrera al agua. Además, estos valores de pérdida de peso están en el mismo rango que los obtenidos en estudios anteriores realizados con rebanadas de carne de cerdo envasadas en la misma película comercial multicapa (Hernández-García et al., 2022).

La oxidación de los lípidos en las muestras de carne de cerdo picada se evaluó mediante el seguimiento de la formación de TBARS, que mide la cantidad de malonaldehído (MDA) producido por los productos secundarios de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. Como se muestra en la Tabla 2, las muestras envasadas en la película comercial multicapa mostraron la menor oxidación al final del almacenamiento, lo que es coherente con la menor permeabilidad al oxígeno de estas películas. Valores similares se encontraron en estudios anteriores realizados con lonchas de carne de cerdo refrigeradas (Hernández-García et al., 2022). Los valores obtenidos son consistentes con las propiedades de barrera al oxígeno obtenidas de los materiales que se incluyen en la Tabla 2. En cualquier caso, al final del almacenamiento el umbral de 0,5 mg MDA/kg, que se considera como el límite de detección de sabores extraños en la carne de cerdo por parte de los consumidores (Sheard et al., 2000), fue superado al final del almacenamiento por todas las muestras, excepto por las envasadas en el film multicapa comercial.

La tabla 3 muestra la evolución de los parámetros cromáticos (L^* , Cab^* , hab^*) y la diferencia total de color (ΔE_{ab}^*) respecto a los valores iniciales ($t = 0$).

Tabla 3. Evolución de los parámetros de color en términos de luminosidad (L^*), croma (Cab^*), tono (hab^*); y diferencia total de color (ΔE_{ab}^*) de las muestras de carne de cerdo picada almacenada en frío y envasada con las películas biodegradables y la película comercial multicapa (WK140). Se incluye el parámetro de color correspondiente de cada película obtenido en estudios anteriores. Valores medios \pm desviación estándar.

| Película (parámetro de color) | 0 d | 3 días | 7 días |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | L^* | | |
| PHBV (88.41 \pm 0.11)* | 59.4 \pm 0.6 ^{c,2} | 60.2 \pm 0.6 ^{b,2} | 63.6 \pm 0.4 ^{a,1} |
| PHBV-COMP (89.39 \pm 0.15)* | 61.6 \pm 0.9 ^{b,2} | 63.7 \pm 0.8 ^{a,1} | 63.3 \pm 0.9 ^{ab,12} |
| PHBV-CMF (88.40 \pm 0.30)* | 60.0 \pm 2.0 ^{b,c,1} | 60.0 \pm 3.0 ^{a,1} | 62.2 \pm 0.8 ^{b,1} |
| PHBV-CMF-COMP (88.86 \pm 0.09)* | 61.7 \pm 1.3 ^{b,1} | 63.0 \pm 1.0 ^{a,1} | 64.0 \pm 1.4 ^{ab,1} |
| WK140 (84.60 \pm 1.00)** | 63.5 \pm 0.4 ^{a,1} | 63.1 \pm 1.3 ^{a,1} | 62.8 \pm 1.5 ^{ab,1} |
| C_{ab}^* | | | |
| PHBV (10.24 \pm 0.15)* | 5.8 \pm 0.1 ^{a,1} | 5.3 \pm 0.1 ^{a,2} | 5.7 \pm 0.1 ^{a,1} |
| PHBV-COMP (8.90 \pm 0.40)* | 3.5 \pm 0.7 ^{b,1} | 3.6 \pm 0.3 ^{b,1} | 3.7 \pm 0.2 ^{b,1} |
| PHBV-CMF (10.25 \pm 0.99)* | 6.0 \pm 0.2 ^{a,1} | 5.8 \pm 0.4 ^{a,1} | 6.0 \pm 0.4 ^{a,1} |
| PHBV-CMF-COMP (9.40 \pm 0.20)* | 3.5 \pm 0.7 ^{b,1} | 3.3 \pm 1.0 ^{b,1} | 3.4 \pm 1.0 ^{b,1} |
| WK140 (2.60 \pm 0.40)** | 4.3 \pm 0.7 ^{b,1} | 3.6 \pm 0.6 ^{b,1} | 3.6 \pm 0.7 ^{b,1} |
| h_{ab}^* | | | |
| PHBV (95.25 \pm 0.11)* | 70.1 \pm 1.5 ^{a,3} | 73.6 \pm 0.8 ^{a,2} | 80.0 \pm 0.4 ^{a,1} |
| PHBV-COMP (98.00 \pm 0.40)* | 67.3 \pm 2.1 ^{a,3} | 74.0 \pm 0.8 ^{a,2} | 77.6 \pm 1.1 ^{b,1} |
| PHBV-CMF (95.10 \pm 0.30)* | 73.0 \pm 5.0 ^{a,2} | 74.0 \pm 7.0 ^{a,12} | 80.2 \pm 0.2 ^{a,1} |
| PHBV-CMF-COMP (98.50 \pm 0.20)* | 69.9 \pm 1.4 ^{a,2} | 75.0 \pm 3.0 ^{a,1} | 79.0 \pm 3.0 ^{ab,1} |
| WK140 (132.00 \pm 4.00)** | 50.0 \pm 7.0 ^{b,1} | 51.0 \pm 5.0 ^{b,1} | 55.0 \pm 5.0 ^{c,1} |
| ΔE_{ab}^* | | | |
| PHBV | - | 1.6 \pm 0.2 ^{a,2} | 5.2 \pm 0.4 ^{a,1} |
| PHBV-COMP | - | 2.2 \pm 0.8 ^{ab,1} | 1.9 \pm 0.8 ^{bc,1} |
| PHBV-CMF | - | 3.0 \pm 0.2 ^{a,1} | 2.7 \pm 0.8 ^{b,1} |
| PHBV-CMF-COMP | - | 1.7 \pm 0.6 ^{bc,1} | 2.4 \pm 1.3 ^{bc,1} |
| WK140 | - | 1.1 \pm 0.2 ^{c,2} | 1.6 \pm 0.1 ^{c,1} |

Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre las muestras para el mismo tiempo de almacenamiento (a-e) o debido al tiempo de almacenamiento para la misma muestra (1-3) ($p < 0,05$).

*Freitas et al., 2022; **Hernández-García et al., 2022.

Las muestras mostraron diferencias en el cromo y el tono al inicio del almacenamiento, según el tipo de envase. Estas diferencias pueden explicarse principalmente por el efecto de difracción de la luz de cada película sobre la muestra de carne, de acuerdo con las diferencias obtenidas en cuanto a sus propiedades ópticas (Freitas et al., 2022; Hernández et al., 2022). De hecho, el porcentaje medio de transmitancia interna de las películas biodegradables osciló entre el 67 y el 72% a 550 nm, mientras que la película multicapa comercial mostró a esta longitud de onda una transmitancia interna media del 90%.

Los valores de luminosidad y croma apenas variaron durante los 7 días de almacenamiento en la carne de cerdo picada envasada, mientras que los valores de tonalidad aumentaron significativamente. La oxidación de los lípidos y la oxidación de la mioglobina en la carne también conducen a la decoloración, y estos procesos están frecuentemente relacionados ya que la oxidación de uno de estos compuestos produce especies químicas que promueven la oxidación del otro (Faustman et al., 2010). Además, los cambios obtenidos en los valores de pH se han asociado con cambios en la cantidad relativa de la forma reducida de la mioglobina (Mb) y la susceptibilidad de los pigmentos musculares a la oxigenación y oxidación en la carne de cerdo. El color amarillento de la carne aumenta debido a un incremento en las cantidades relativas de las formas oxigenadas y oxidadas de la mioglobina (MbO₂ y MetMb) a expensas de la forma reducida (Karamucki et al., 2013). Todos estos factores podrían explicar los cambios significativos obtenidos en la tonalidad de las muestras al verse afectadas por el tiempo de almacenamiento. También cabe mencionar que las muestras envasadas en las películas biodegradables desarrollaron un tono más rojo y mantuvieron el color original de la carne fresca. Por último, las diferencias totales de color durante el almacenamiento de todas las muestras no superaron el límite de tolerancia habitual para los productos alimentarios ($\Delta E < 5$, Hutchings, 1999), excepto en el caso de las muestras envasadas en películas PHVB, que superaron el nivel de 5 unidades.

La figura 1 muestra los cambios en los recuentos de aerobios totales (TAC), coliformes y bacterias lácticas (BAL) en función del tiempo de almacenamiento.

Como era de esperar, los recuentos microbianos más bajos se observaron en las muestras envasadas en el film multicapa comercial debido a sus mayores propiedades de barrera al oxígeno, aunque las diferencias solo fueron significativas ($p < 0,05$) con respecto a las muestras envasadas con las diferentes películas biodegradables después de tres días de almacenamiento. En cuanto al TAC, que es el estándar cuantitativo para identificar las condiciones y el grado de contaminación de la carne (Huang et al., 2013), se puede observar que los recuentos aumentaron de aproximadamente 2,4 logs UFC/g a valores en el rango de 3,7-4,7 para la carne de cerdo picada envasada con las películas biodegradables durante el almacenamiento refrigerado. Además, el patrón de crecimiento bacteriano en las muestras de carne de cerdo picada fue también muy similar para todas las películas biodegradables, permaneciendo casi constante durante los primeros días de almacenamiento y estabilizándose después de una semana con diferencias entre las películas que no fueron significativas ya que son inferiores a 2 logs. Las muestras envasadas con la multicapa comercial mostraron valores más bajos durante todo el almacenamiento. Ninguna de las muestras envasadas superó el nivel aceptable de TAC de 5 logs UFC/g al final del proceso de fabricación que se indica en el Reglamento de la Comisión Europea (CE) número 2073/2005 para la carne picada. Por lo tanto, todos los materiales de envasado evaluados cumplen con el valor requerido de seguridad y calidad alimentaria.

El recuento total de microbios coliformes aumentó de aproximadamente 1,9 log UFC/g a valores que oscilan entre 3,88 y 4,93 log UFC/g en las muestras de carne de cerdo envasadas en las películas biodegradables. Se puede observar que las películas biodegradables reforzadas con CMF muestran recuentos de coliformes ligeramente inferiores en comparación con las muestras de carne de cerdo picada envasadas en películas de PHBV y PHBV-COMP.

Los recuentos microbianos de BAL, que son el grupo dominante de microorganismos aislados de los productos cárnicos, aumentaron en las muestras de carne picada de 1,7 log UFC/g a valores en el rango de 4-5,4 log UFC/g después de 1 semana de almacenamiento. Al igual que lo observado para los recuentos de TAC y coliformes, el patrón de crecimiento fue muy similar en todos los filetes de carne de cerdo envasados en las películas biodegradables, y no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en cuanto al tipo de película. En el caso de la muestra envasada en el film comercial, los recuentos de BAL fueron inferiores a los valores registrados en las muestras envasadas en las películas biodegradables, aunque las diferencias fueron inferiores a 2 logs.

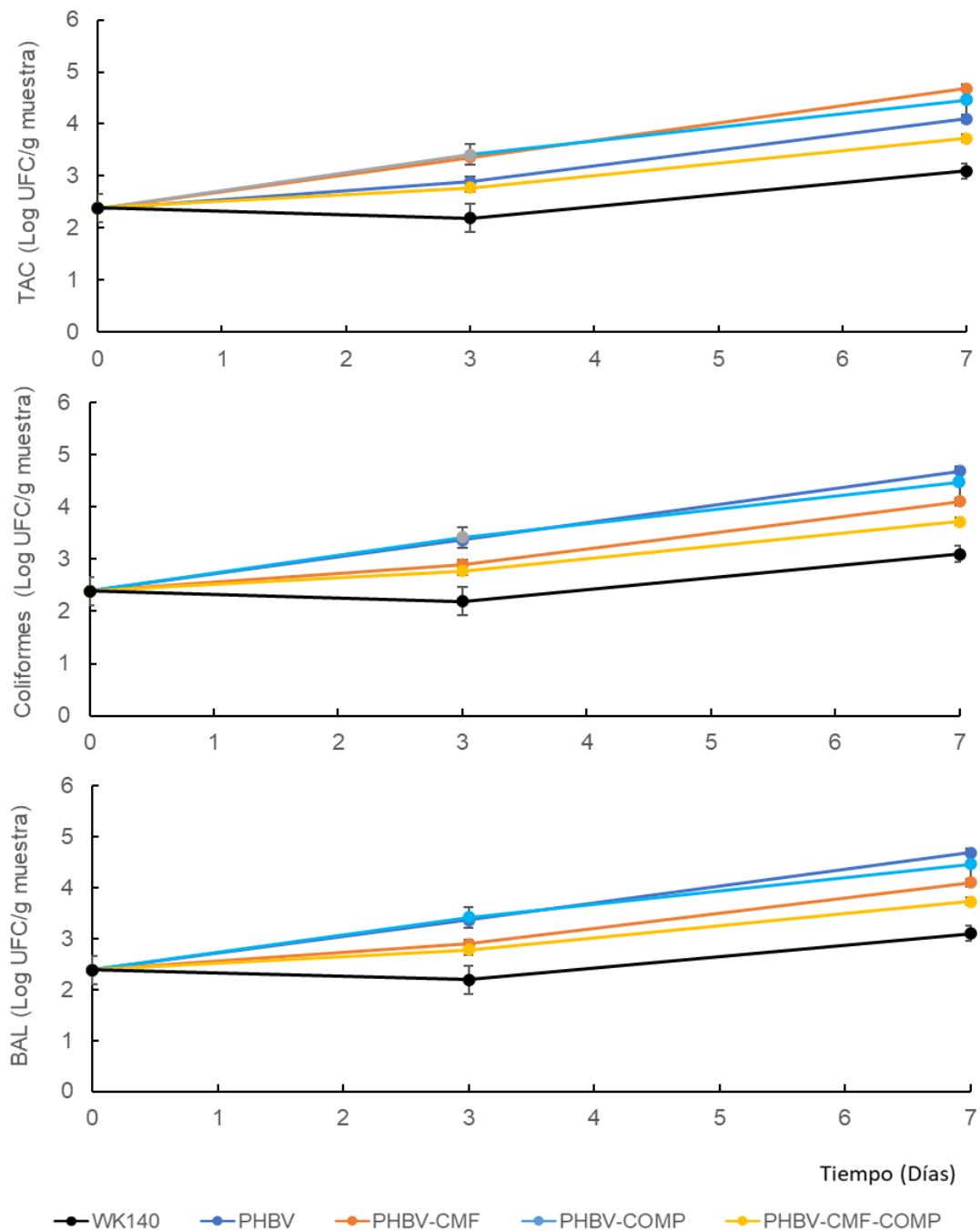


Figura 1. Cambios en los recuentos de coliformes aeróbicos totales (TAC) y bacterias lácticas (LAB) en muestras de carne de cerdo picada almacenada en frío y envasada en las películas biodegradables y en el multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%.

3.3. Efecto de las películas biodegradables en la calidad de conservación del aceite de girasol.

La figura 2 muestra los cambios en los valores de índice de peróxidos (PV) de las muestras de aceite de girasol durante el almacenamiento a 30°C y 53% de HR, con la presencia de luz para promover la oxidación del aceite. El PV está asociado a la presencia de hidroperóxidos derivados de la oxidación primaria de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la muestra y, por tanto, los valores de PV están relacionados con la etapa de oxidación inicial (Sadeghi et al., 2017).

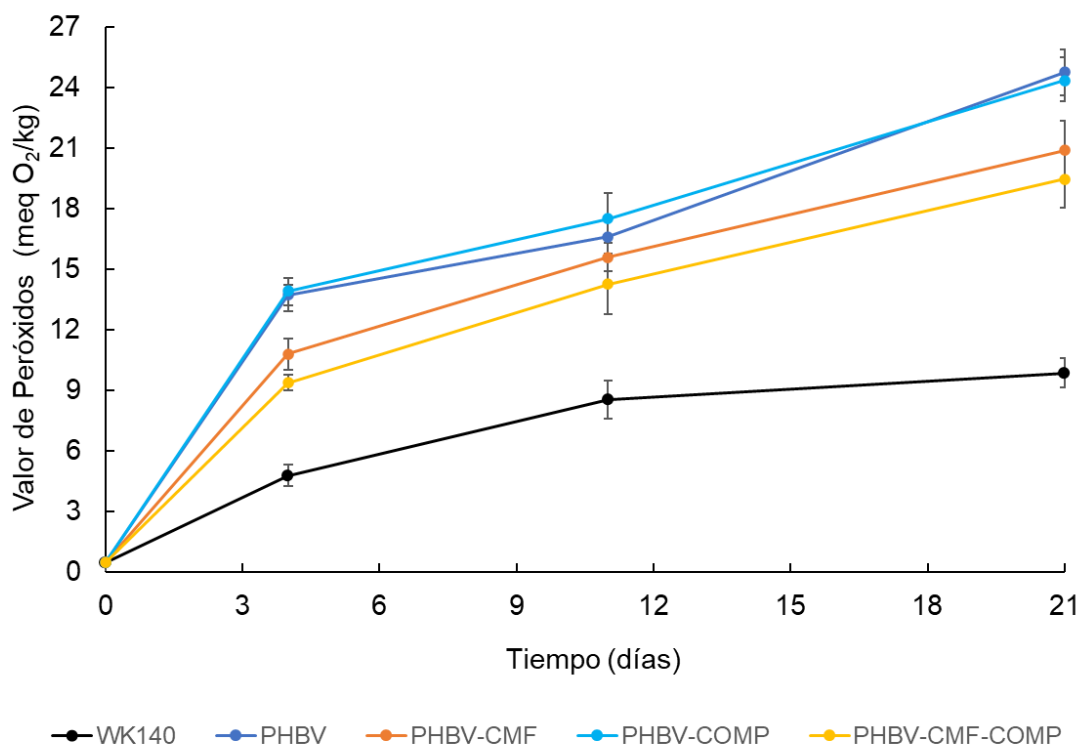


Figura 2. Evolución de los valores de peróxido en las muestras de aceite de girasol durante las condiciones de almacenamiento acelerado que promueven la oxidación, afectadas por el envasado con las películas biodegradables y película multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%.

El PV inicial del aceite de girasol fue de 0,5 meq O₂ /kg, que está en el rango del límite de detección, con un aumento continuo durante el almacenamiento, alcanzando niveles medios entre 19,5 y 24,8 meq O₂ /kg después de 21 días en las muestras envasadas con las películas biodegradables, que sigue siendo inferior al rango de 30-40 meq O₂ /kg que generalmente se asocia con un sabor rancio. Los PV fueron significativamente menores en las muestras envasadas con las películas biodegradables formuladas con CMF, especialmente al final del período de almacenamiento, probablemente debido a la menor permeabilidad al oxígeno de estas películas (Freitas et al., 2022).

El menor aumento del PV se registró en las muestras envasadas en la película comercial multicapa de alta barrera, debido a su permeabilidad al oxígeno significativamente menor, como se ha comentado anteriormente. En las muestras envasadas con esta película comercial, el valor máximo de peróxido de 10 meq O₂ /kg establecido en la norma del Codex para los aceites vegetales frescos con denominación (Codex Alimentarius, 1999) no se superó durante todo el periodo de almacenamiento a pesar de las condiciones de oxidación acelerada utilizadas.

Los cambios en el contenido de dienos conjugados y trienos a lo largo de las condiciones de oxidación acelerada se muestran en la Figura 3. Los dienos conjugados y los trienos se forman por el reordenamiento de los dobles enlaces del hidroperóxido, por lo que los dienos conjugados representan los productos primarios de degradación del aceite y podrían utilizarse para confirmar el contenido de PV, mientras que

los trienos conjugados están relacionados con los productos secundarios de la oxidación (Mohdaly et al., 2010). Todas las muestras mostraron un aumento de los dienos conjugados, con un patrón similar al descrito anteriormente para los valores de índice de peróxidos. Sin embargo, los trienos conjugados se mantuvieron casi constantes durante el periodo de almacenamiento, lo que confirma que la oxidación del aceite de girasol no alcanza una segunda etapa de degradación. Esto último está en concordancia con los resultados obtenidos en estudios previos realizados en las mismas condiciones aceleradas (Talón et al., 2019).

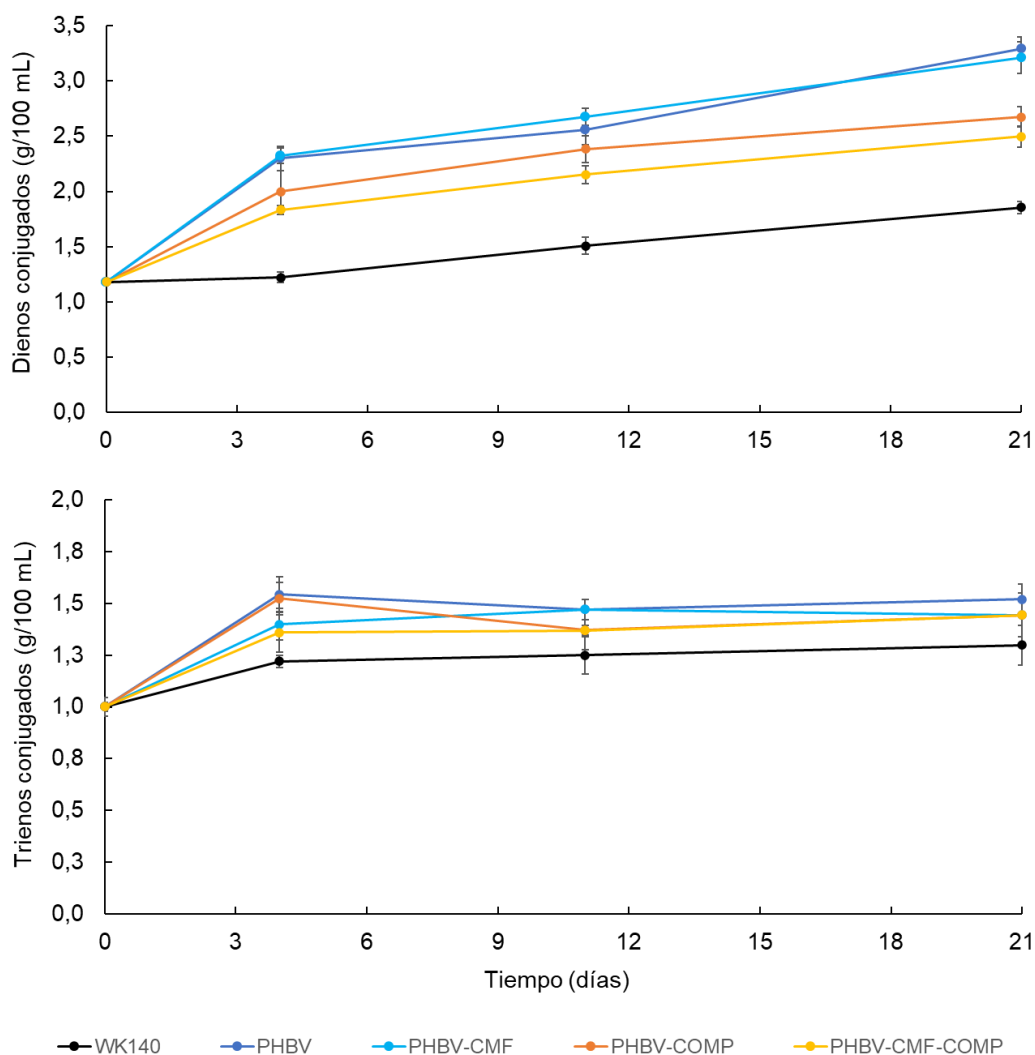


Figura 3. Evolución de los dienos conjugados y los trienos en las muestras de aceite de girasol durante las condiciones de almacenamiento acelerado en función del envasado con las películas biodegradables y película multicapa comercial (WK140). Valores medios e intervalos LSD del 95%.

4. CONCLUSIONES.

El impacto negativo sobre el medio ambiente de los materiales comerciales de envasado de alimentos multicapa hace necesaria la búsqueda de alternativas biodegradables basadas en biopolímeros derivados de recursos renovables como el PHBV siguiendo los principios de la Economía Circular. En estudios anteriores se desarrollaron novedosos compuestos biodegradables preparados con PHBV, microfibras de celulosa y compatibilizantes y se caracterizaron en cuanto a sus propiedades físicas, estando la aplicación para la conservación

de alimentos aún poco explorada. En este sentido, las películas biodegradables obtenidas a partir de PHBV reforzados con microfibras de celulosa (CMF) demostraron ser seguras para su aplicación para el envasado de carne picado de cerdo y aceite de girasol, ya que no se superó el nivel máximo de migración total permitido para materiales en contacto con alimentos en ninguno de los dos simulantes (etanol al 10% v/v y aceite vegetal). Las películas biodegradables reforzadas a base de PHBV resultaron eficaces para preservar la calidad fisicoquímica y microbiológica de las muestras de carne de cerdo picada durante su almacenamiento a 5°C, aunque estas películas mostraron mayores permeabilidades al vapor de agua y al oxígeno que la multicapa comercial de alta barrera probada de poliamida 6 y EVOH. En cuanto a la prevención de la oxidación del aceite de girasol, todas las películas biodegradables evaluadas mostraron un menor efecto en comparación con la película multicapa comercial en las condiciones de almacenamiento acelerado elegidas para promover una rápida oxidación de las muestras. Entre las películas biodegradables de PHBV, las películas reforzadas con CMF, con y sin compatibilizantes, mostraron ser las más efectivas para prevenir la oxidación de las muestras. En estudios futuros se llevarán a cabo ensayos adicionales para evaluar el efecto de las películas biodegradables reforzadas con CMF en la prevención de la oxidación del aceite de girasol a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.

5. BIBLIOGRAFIA:

- Bucci, D.Z., L.B.B. Tavares, I. Sell. (2007). Biodegradation and physical evaluation of PHB packaging. *Polymer Testing*, 26 (7): 908-915. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2007.06.013>
- 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 Multilayer Sheets into Trays with Variable Depth. *Polymers*, 6:3019-3043. <http://doi:10.3390/polym6123019>
- Cenci-goga, B. T., Lulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., Karama, M., & Grispoldi, L. (2020). New Trends in Meat Packaging. *Microbiology Research*, 11: 56-67. <https://doi.org/doi:10.3390/microbiolres11020010>
- Codex-Alimentarius (1999). Codex-Standards for fats and oils from vegetable sources, Vol. 210 p. 1.
- Daniloski, D., Petkoska, A. T., Galić, K., Ščetar, M., Kurek, M., Vaskoska, R., 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, 107880. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107880>
- Dixon, J. Packaging materials: 9. multilayer packaging for food and beverages. *ILSI Europe*. Report series. 2011, pp. 1-44.
- Domeño, C., Aznar, M., Nerín, C., Isella, F., Fedeli, M., Bosetti, O. (2017). Safety by design of printed multilayer materials intended for food packaging. *Food Additives and Contaminants*, 34:1239-1250. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1322221>
- European Commission (1991). Regulation EEC/2568/91 on the characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. Off. J. Eur. Communities L, 248, 1991.
- European Commission (2005). Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj>
- European Commission (2011). Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food Text with EEA relevance.
- Freitas, P. A.V., Barrasa, H., Vargas, F., Rivera-Patiño, J. D., Vargas, M., Torres-Giner, S. (2022). Atomization of Microfibrillated Cellulose and Its Incorporation into Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by Reactive Extrusion. *Applied Sciences*, 12 (4): 1-27. <https://doi.org/10.3390/app12042111>
- Hernández-García, E., Vargas, M., Torres-Giner, S. (2022). Quality and Shelf-Life Stability of Pork Meat Fillets Packaged in Multilayer Polylactide Films. *Foods*, 11 (3): 426. <https://doi.org/10.3390/foods11030426>
- Hottle, T.A.; Bilec, M.M.; Landis, A.E. (2017). Biopolymer production and end of life comparisons using life cycle assessment, *Resources, Conservation and Recycling*, 122, 295-306. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.03.002>
- Huang, L.; Zhao, J.; Chen, Q.; Zhang, Y. Rapid detection of total viable count (TVC) in pork meat by hyperspectral imaging. (2013)- *Food Research International.*, 54, 821-828. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.011>
- Hutchings, J. B. (1999). Instrumental specification. In *Food colour and appearance*. pp. 199–237. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2373-4_7
- Khan, S., Choudhary, S., Pandey, A., Khan, M. K., & Thomas, G. (2015). Sunflower oil: Efficient oil source for human consumption. *Emer Life Science Research*, 1, 1–3.

- Kucuk, M., & Caner, C. (2005). Effect of packaging materials and storage conditions on sunflower oil quality. *Journal of Food Lipids*, 12(3), 222–231. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2005.00019.x>
- Laycock, B.; Arcos-Hernandez, M.V.; Langford, A.; Buchanan, J.; Halley, P.J.; Werker, A.; Lant, S. Pratt; P.A. (2014). Thermal properties and crystallization behavior of fractionated blocky and random polyhydroxyalkanoate copolymers from mixed microbial cultures, *Journal of Applied Polymer Science*, 131. <https://doi.org/10.1002/app.40836>
- Mazzola, N., & Sarantopoulos, C.I.G.L. (2019). Packaging Design Alternatives for Meat Products. In book: Insights on Novel Meat Processing and Preservation Methods. 10.5772/intechopen.88586
- Mohdaly, A. A. A., Sarhan, M. A., Mahmoud, A., Ramadan, M. F., & Smetanska, I. (2010). Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet. *Elsevier*, Volume 123, Issue 4, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.054>
- Radusin, T.; Torres-Giner, S.; Stupar, A.; Ristic, I.; Miletic, A.; Novakovic, A.; Lagaron, J. M. Preparation, characterization and antimicrobial properties of electrospun polylactide films containing Allium ursinum L. extract. *Food Packaging and Shelf Life*. 2019, 21, 100357. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100357>
- Robertson, G. L; Packaging and Food and Beverage Shelf Life. In *The Stability and Shelf Life of Food*, 2nd ed.; 2016; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. pp. 77-106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00003-4>
- Sadeghi, E., Karami, F., & Etminan, A. (2017). The effect of Ferulago angulata (Schlecht) Boiss essential oil on stabilization of sunflower oil during accelerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12745>
- Sheard, P. R.; Enser, M.; Wood, J. D.; Nute, G. R.; Gill, B. P.; Richardson, R. I. (2000) Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA. *Meat Science.*, 55, 213–221. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00145-X](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00145-X)
- Siu, G., & Draper, H.H. (1978). A survey of malonaldehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science*, 43,1147-1149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15256.x>
- Talón, E., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2019). Antioxidant starch-based films with encapsulated eugenol. Application to sunflower oil preservation. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 113, 108290. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108290>
- Torres-Giner, S.; Figueroa-Lopez, K.J.; Melendez-Rodriguez, Prieto, B.C.; Pardo-Figuerez, M.; Lagaron, J.M. (2021). Emerging Trends in Biopolymers for Food Packaging, in: *Sustainable Food Packaging Technology*, pp. 1-33. <https://doi.org/10.1002/9783527820078.ch1>
- Torres-Giner, S.; Gil, L.; Pascual-Ramírez, L; Garde-Belza, J.A. Packaging: Food Waste Reduction. In *Encyclopedia of Polymer Applications: CRC Press*. 2019.
- Torres-Giner, S.; Montanes, N.; Fombuena, V.; Boronat, T.; Sanchez-Nacher, L. (2018). Preparation and characterization of compression-molded green composite sheets made of poly(3-hydroxybutyrate) reinforced with long pita fibers, *Advances in Polymer Technology*, 37, 1305-1315. <https://doi.org/10.1002/adv.21789>
- 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. <https://doi.org/10.3390/foods10061374>