

Del 2 al 5 de mayo de 2023

**CENTRO UNIVERSITARIO
SANTA ANA
ALMENDRALEJO**



Joaquín Sorolla Bastida. Comiendo uvas, 1898. Acualera sobre papel. Museo Sorolla, n° inv. 00427

**XLV JORNADAS
DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
TIERRA DE BARROS
V CONGRESO AGROALIMENTARIO
DE EXTREMADURA**

XLV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
DE LA TIERRA DE BARROS
V CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Colabora: Cajalmendralejo

Ilustración de portada:

Joaquín Sorolla Bastida. "Comiendo uvas". 1898. Acuarela sobre papel.
Museo Sorolla. n: inv. 00427. © Fundación Museo Sorolla

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: María Sabater

ISBN: 84-7930-113-9

D.L.: BA-000169-2024

Imprime: Impresal

Conservación de carne fresca de cerdo mediante biopolímeros basados en quitosano

CABEZA DE VACA, M.

ROCHA PIMIENTA, J.

TEJERINA BARRADO, D.

RAMÍREZ, R.

DELGADO-ADÁMEZ, J.

Instituto Agroalimentario (INTAEX).
Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CICYTEX).

RESUMEN

La sustitución de envases de plástico derivados del petróleo por otros sostenibles con el medioambiente supone actualmente un reto que podría solventarse, en parte, con el uso de materiales biodegradables. En este estudio se evaluó el efecto de dos tipos de films biodegradables basados en biopolímeros de quitosano como recubrimiento protector para la conservación de carne fresca de cerdo. Se analizó, a lo largo de 9 días, la evolución de la carga microbiana (microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos, mohos y levaduras totales, *Escherichia coli*, coliformes totales, *staphilococcus aureus*, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*), del color (CIE L*, CIE a*, CIE b*) y de los niveles de oxidaciones lipídica (TBA-RS) y proteica en filetes de lomo fresco envasados al vacío sin ningún biopolímero (control), frente a muestras recubiertas por films

de biopolímeros formulados con quitosano o quitosano/gelatina. De manera global, se observó a lo largo del tiempo un incremento significativo en los recuentos de bacterias aerobias mesófilas y psicrófilas, así como de mohos y levaduras totales en los filetes; igualmente se incrementó la luminosidad (CIE L*) y los valores de oxidación lipídica durante el almacenamiento. El empleo de los biopolímeros activos mostró un efecto significativo sobre todos los parámetros analizados, salvo la oxidación proteica. Ambos biopolímeros tuvieron un efecto en las variaciones de color, así como en el TBA-RS, y controlaron significativamente el incremento de los recuentos microbiológicos durante el almacenamiento, especialmente los formulados únicamente con quitosano. Sin embargo, el empleo de estos biopolímeros provocaron cambios significativos en el color de la carne fresca, por lo que su formulación debería ajustarse para reducir efectos indeseables.

SUMMARY

The replacement of packaging made in traditional plastics, derived from petroleum, by others sustainable with the environment, currently means a challenge that could be solved, in part, with the use of biodegradable materials. In the present study, the effect of two types of biodegradable films based on chitosan as protective coatings for the preservation of fresh pork meat was evaluated. For 9 days, evolution of the microbial load (mesophilic and psychrophilic aerobic microorganisms, total molds and yeasts, *Escherichia coli*, total coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*), color (CIE L*, CIE a*, CIE b*), lipid oxidations (TBA-RS) and protein oxidation levels has been analyzed, in vacuum-packed fresh loins sliced without any biopolymer (control), compared to samples coating by biopolymer films formulated with chitosan or gelatin/chitosan. Overall, throughout storage, a significant increase of aerobic mesophilic and psychrophilic bacteria counts was observed, as well as total molds and yeasts; lightness (CIE L*) and lipid oxidation values also increased during storage. The use of active biopolymers showed a significant effect on all the parameters analyzed, except for protein oxidation. Both biopolymers affected color variations, as well as TBA-RS, and significantly controlled the increase of microbiological counts during storage, especially those formulated only with chitosan. However, the use of these biopolymers could significantly change the fresh meat color, so their formulation should be adjusted to reduce undesirable effects.

INTRODUCCIÓN

La reducción de la vida útil de los productos cárnicos frescos viene determinada por su deterioro a nivel microbiológico y las alteraciones fisicoquímicas, que derivan en cambios de sus cualidades organolépticas (color, aroma, sabor). Estas últimas son claves en la aceptabilidad final por parte del consumidor, y sus variaciones, en parte, son derivadas de las oxidaciones naturales y los procesos microbiológicos desarrollados durante la conservación. De esta manera, el empleo de sistemas de protección superficial de las carnes frescas basados en films, como barreras físico-químicas que eviten las reacciones de oxidación y el crecimiento microbiológico, supone una estrategia generalizada para la conservación de los productos cárnicos. La sustitución de estos films derivados del petróleo y no sostenibles medioambientalmente por materiales biobasados supone en nuestros días un reto para la industria de envasados. En este sentido, el quitosano y la gelatina constituyen dos tipos de biopolímeros degradables de origen natural y de fácil obtención a partir de residuos de las industrias agroalimentarias, presentándose como una alternativa medioambiental y económicamente sostenible a los plásticos tradicionales de un solo uso (Wang *et al.*, 2021). Además, el importante efecto activo como agente antimicrobiano y antioxidante del quitosano, ampliamente demostrado (Ouattar *et al.*, 2000; Rabea *et al.*, 2003; Cardoso *et al.*, 2016 y 2019) añaden a estos tipos de biopolímero un especial interés como films activos protectores de alimentos.

Con todo ello, el objetivo del presente estudio fue el de analizar el efecto del empleo de films protectores formulados con quitosano y quitosano/gelatina para la prolongación de la vida útil de la carne fresca de cerdo. Para ello, se evaluó durante 9 días el efecto de la aplicación de estos films sobre el color, las oxidaciones y la carga microbiana en filetes frescos de lomo de cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación de biopolímeros

Los dos tipos de biopolímeros basados en quitosano, se obtuvieron según los métodos de Martillanes *et al.* (2021) y Benbettaïeb *et al.* (2016). Un primer polímero (quitosano) se obtuvo a partir de la dilución de quitosano al 2% (p/v) en una solución al 1% (v/v) de ácido láctico y con la adición de un 1%

de glicerol (p/v). El segundo polímero (gelatina), formulado con quitosano y gelatina, se obtuvo a partir de un 1% (p/v) de quitosano y un 3% (p/v) de gelatina disueltos en una solución de ácido láctico al 0,4% (v/v), con la adición final de un 0,4 % de glicerol.

Envasado de la carne

Para el presente estudio, se adquirieron en un comercio local filetes de lomo fresco de cerdo de aproximadamente 0,5 cm de grosor. Todas las muestras fueron envasadas en bolsas a vacío, pero en algunas además se incluyó el recubrimiento comestible o film objeto de estudio. Las muestras control fueron envasadas en bolsas a vacío sin ningún tipo de recubrimiento, mientras que las restantes fueron recubiertas por ambas caras, bien con biopolímeros de quitosano, o bien con biopolímeros de gelatina. Las muestras se conservaron en refrigeración (5°C) durante 1, 5 ó 9 días. Pasado el tiempo de conservación correspondiente, inmediatamente se midieron los parámetros de color y se llevó a cabo el análisis microbiológico, mientras que el resto de muestra se congeló hasta las mediciones de las oxidaciones. Para cada lote experimental se realizaron 5 réplicas.

Métodos analíticos

El color se midió instrumentalmente a través de la valoración de los parámetros de la escala CIELAB. Los valores de CIE L*, CIE a* y CIE b* se obtuvieron con un espectrofotómetro Konica Minolta CM-5, con apertura de 30 mm, iluminancia D65 y un ángulo de visión de 10°. Las medidas se llevaron a cabo por ambas caras de cada filete.

Para la valoración del estado oxidativo se determinaron las oxidaciones lipídicas y de proteínas. La oxidación lipídica se llevó a cabo con el método de TBA-RS de Salih *et al.* (1987), previa extracción con ácido tricloroacético, y los resultados expresados en mg equivalentes de Malondealdeido (MDA)/g de carne. La oxidación de proteínas se determinó por el método espectrofotométrico de Oliver *et al.* (1987), expresándose los resultados en contenido de carbonilos (nmol)/mg de proteína.

Los análisis microbiológicos se realizaron según los estándares internacionales. Para ello se evaluaron los contenidos en aerobios mesófilos y psicrófilos (ISO 4833-1:2013), mohos y levaduras totales (ISO

21527-2:2008), coliformes totales (ISO 4832:2006), *Escherichia coli* (ISO 16649-1:2019), *Staphylococcus aureus* (ISO 6888 1/2:2021), *Salmonella* spp. (*Salmonella* ONE Broth: ISO 6579:2009) y *Listeria monocytogenes* (ONE Broth: UNI 03/04-04/05 y UNI 03/05-09/06). Las analíticas se llevaron a cabo con los medios y condiciones de cultivo indicadas para cada determinación. Las muestras fueron diluidas en series decimales hasta alcanzar la dilución adecuada para las cargas de cada microorganismo en cada una de las muestras.

Los resultados obtenidos fueron analizados a través del software estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. IBM Corp., 2019.). Para la determinación global de los efectos del tiempo de conservación y del biopolímero empleado, se llevó a cabo un análisis de la varianza de dos vías. Para cada tiempo de conservación, el efecto individual del tipo de biopolímero empleado, así como de la presencia o ausencia de biopolímero, se realizó por medio del análisis de la varianza de una vía. Se consideraron valores diferentes para niveles de significación $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Efectos globales de los factores analizados

Para cada uno de los parámetros contemplados en el presente estudio, se analizó el efecto del tipo de polímero (control, quitosano o gelatina) y del tiempo de conservación (1, 5 y 9 días), así como la interacción entre ambos factores (tabla 1). De forma general, se observaron efectos significativos debidos al tipo de recubrimiento sobre todo los parámetros salvo la oxidación proteica, mientras que el tiempo de conservación tan sólo afectó a los valores de CIE L*, la oxidación lipídica (TBA-RS) y las poblaciones de mesófilos, psicrófilos, mohos y levaduras. Asimismo, se observaron interacciones cruzadas de ambos factores en todos los parámetros analizados salvo CIE a*, CIE b* y los contenidos en *Staphylococcus aureus*.

Estos resultados indicarían que los biopolímeros tienen actividad sobre todos los parámetros evaluados excepto sobre la oxidación proteica de la carne.

Cambios de color instrumental de la carne fresca

Los resultados del análisis colorimétrico son los recogidos en la tabla 2. Las muestras control mostraron a lo largo del tiempo la evolución propia del lomo fresco de cerdo (Kim *et al.*, 2018; Hwang & Hong, 2020), observándose una tendencia al aumento de la luminosidad y de los tonos amarillos y un descenso en las tonalidades rojas, aunque estas variaciones sólo resultaron significativas ($p \leq 0.05$) para los valores de CIE L*. La aplicación de ambos recubrimientos, y acorde con lo mostrado por Cardoso *et al.* (2019), mostró un efecto significativo sobre la colorimetría de las muestras, así como una estabilización del color a lo largo de la conservación. En relación a la luminosidad de la carne (CIE L*), ninguno de los biopolímeros mostró diferencias significativas con respecto al control hasta el día 9, presentado ambos recubrimientos valores menores que los controles, frenado el incremento de luminosidad que se produce durante el almacenamiento. Para los valores asociados al color rojo (CIE a*), la gelatina no presentó ningún efecto a lo largo de la conservación, mostrando las muestras con este recubrimiento un comportamiento similar al de las muestras control. El biopolímero de quitosano puro, sin embargo, dio lugar a un enrojecimiento de la carne desde el primer día de conservación, manteniéndose en valores superiores a 4,1 a lo largo de todo el estudio, con las consecuencias que ello podría suponer en la aceptabilidad de la carne en el lineal de compra. En relación a las tonalidades amarillas (CIE b*), los valores de CIE b* se mantuvieron en niveles similares a lo largo del almacenamiento para las muestras cubiertas con ambos biopolímeros, y mientras el quitosano no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto a sus controles, la gelatina supuso un descenso de los valores de CIE b* desde el primer momento, manteniendo valores similares hasta el día 9.

Procesos oxidativos de la carne fresca

Según los resultados de la oxidación lipídica y proteica (tabla 3), el tiempo de almacenamiento en refrigeración no tuvo ningún efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la oxidación lipídica en los filetes sin recubrimiento. Sin embargo, los niveles de TBA-RS de los filetes con recubrimientos de gelatina incrementaron el último día de conservación, pasando de valores de $0,2 \pm 0,1$ mg MDA/g a día 1 y 5, hasta $0,4 \pm 0,1$ mg MDA/g a partir del día 9. Los incrementos de la oxidación lipídica en los filetes están en consonancia con lo observado por Cardoso *et al.* (2016) y Hamann *et al.*

(2022) para recubrimientos de características similares. Del mismo modo, el recubrimiento con quitosano supuso también un incremento de los valores de oxidación respecto a sus controles desde el primer momento, con valores de $0,4\pm 0,2$ mg MDA/g a día 1 y llegando a incrementarse hasta $0,8\pm 0,1$ mg MDA/g al final del estudio, mostrando una tendencia similar a la observada por Fang *et al.* (2018) hasta el día 10 de conservación. Por tanto, y según nuestros resultados y los mostrados por estudios anteriores, el empleo de estos tipos de recubrimientos induciría los procesos oxidativos en la carne fresca, con las consecuencias negativas que supondrían para su conservación, tanto a nivel organoléptico y como por favorecer la formación de compuestos nocivos para la salud (Khan *et al.*, 2015; Soladoye *et al.*, 2015; Huang & Ahn, 2019). Por el contrario, los niveles de oxidación proteica se mantuvieron similares a lo largo del tiempo de conservación, y no se vieron afectados por el tipo de recubrimiento, observándose tan sólo a día 9 un leve incremento del mismo para ambos biopolímeros, resultando significativo ($p\leq 0.05$) en el caso de la gelatina.

Estos hechos ponen de manifiesto la necesidad de incluir antioxidantes en la formulación de biopolímeros de quitosano y quitosano/gelatina.

Microbiología de la carne fresca

De manera global, las muestras de carne control mostraron un incremento significativo ($p\leq 0.05$) a lo largo del tiempo de refrigeración de los recuentos (Log_{10} UFC/g) de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos, mohos y levaduras, así como de coliformes totales (tabla 4). La presencia de *E. coli* y *S. aureus* resultó puntual, limitándose a la detección de algunas colonias en muestras muy concretas, no llegándose a detectar en ninguna de las muestras de gelatina ni quitosano. Igualmente, no se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes* ni de *Salmonella* sp. en las muestras analizadas.

El empleo de ambos biopolímeros supuso un descenso de los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos ($p\leq 0.05$) respecto al control desde el día 1, manteniéndose a lo largo del almacenamiento en valores por debajo de $6 \log_{10}$ UFC/g. El quitosano además evitó la proliferación de este grupo microbiano, manteniéndose a día 9 en valores similares al momento inicial, y por debajo de las $5 \log_{10}$ UFC/g. La aplicación del biopolímero de gelatina no mostró ningún efecto en de las cargas de psicrófilos, mientras que el quitosano supuso un control de los mismos desde el primer momento,

reduciendo sus valores de $5.1 \log_{10}$ UFC/g en las muestras control hasta $2.7 \log_{10}$ UFC/g a día 1, incrementando este efecto hasta el final del estudio, llegando a no ser detectados a día 9. Las poblaciones de mohos y levaduras en el caso de la gelatina sólo mostraron una reducción significativa ($p \leq 0.05$) el último día de conservación, mientras que los recubrimientos de quitosano presentaron menores cargas que las muestras control desde el día 1, manteniéndose este comportamiento hasta el final de estudio.

Los recuentos de coliformes en los recubrimientos de gelatina fueron significativamente menores que el control a partir del día 5, manteniéndose las poblaciones por debajo de $2 \log_{10}$ UFC/g hasta el final del estudio, mientras que el biopolímero de quitosano resultó altamente efectivo frente a coliformes, no detectándose en las muestras recubiertas con este polímero ninguna colonia a lo largo de todo el ensayo.

El empleo de los dos biopolímeros evaluados en la carne fresca de cerdo permitió controlar el desarrollo de los niveles de mesófilos y psicrófilos, mohos y levaduras y coliformes totales durante el almacenamiento de la carne en refrigeración, constatándose la efectividad en el control microbiano del quitosano observada previamente por otros autores, tanto por su efecto bactericida (Paparella *et al.*, 2016; Y. Wang *et al.*, 2022) como fungicida (Sathiyabama & Parthasarathy, 2016). Sin embargo, la eficacia del quitosano como compuesto antimicrobiano como recubrimiento protector resultó, según el presente trabajo, mayor en sus aplicaciones como único componente que en su formulación combinada con gelatina, corroborando los resultados como bactericida obtenidos por Xiong *et al.* (2020) y Zhang *et al.* (2020). De forma más concreta, y en concordancia con Montañó-Sánchez *et al.* (2020) y Chaparro-Hernández *et al.* (2019), el presente estudio muestra como los biopolímeros de quitosano resultan especialmente eficaces en el control de coliformes, así como de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos.

CONCLUSIONES

De manera global, la aplicación de biopolímeros basados en quitosano y quitosano-gelatina en la carne fresca de cerdo ha permitido el control del desarrollo microbiano durante la refrigeración, lo que demostraría la efectividad del quitosano en el control microbiano. Sin embargo, habría

que valorar si los cambios observados a nivel de color instrumental y de oxidación lipídica serían viables para su potencial uso para mejorar la conservación de la carne fresca.

AGRADECIMIENTOS

Esta publicación es parte del proyecto de I+D+i PID 2020-11908, financiado por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033/.

	Recubrimiento	Tiempo	Recubrimiento x tiempo
CIE L*	*	**	*
CIE a*	***	ns	ns
CIE b*	***	ns	ns
Oxidación lipídica	***	**	***
Oxidación de proteínas	ns	ns	**
Mesófilos	***	***	***
Psicrófilos	***	**	***
Mohos y levaduras	***	**	***
Coliformes	***	ns	***
E. coli	***	ns	*
<i>S. aureus</i>	*	ns	ns

Tabla 1. Interacción entre los factores de estudio.

Notas. Recubrimientos: Ninguno, quitosano/gelatina, quitosano. Tiempos de conservación: día 1, día 5 y día 9. Niveles de significación de los ANOVA: ns= $p > 0.05$; *= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$; ***= $p \leq 0.001$.

Tabla 2. Evolución de los parámetros colorimétricos para los 3 tiempos de conservación en muestras de carne fresca de cerdo según el tipo de recubrimiento.

	Control	Con recubrimiento	Sig.
CIE L* día 1			
Gelatina	54,8±3,4	53,2±1,5	ns
Quitosano	53,6±0,8	54,1±2,2	ns
Sig.	ns	ns	
CIE L* día 5			
Gelatina	57,1±2,4	55,1±0,5	ns
Quitosano	55,6±3,3	56,6±2	ns
Sig.	ns	ns	

CIE L* día 9			
Gelatina	59,2±1,9	56,3±0,7	*
Quitosano	57,1±1,8	53,1±3,2	*
Sig.	ns	ns	
CIE a * día 1			
Gelatina	2,8±1,7	2,4±0,8	ns
Quitosano	2,4±0,5	4,1±1,2	*
Sig.	ns	*	
CIE a * día 5			
Gelatina	2,1±1,6	2,7±0,6	ns
Quitosano	2,6±1,4	4,1±0,9	ns
Sig.	ns	*	
CIE a * día 9			
Gelatina	1,8±1,0	2,1±0,6	ns
Quitosano	1,7±0,8	4,2±0,6	**
Sig.	ns	***	
CIE b* día 1			
Gelatina	9,1±0,5	7,5±0,8	*
Quitosano	9,1±0,6	9,2±1,0	ns
Sig.	ns	*	
CIE b* día 5			
Gelatina	9,2±0,3	7,3±0,4	***
Quitosano	10±0,5	9,6±1,2	ns
Sig.	*	**	
CIE b* día 9			
Gelatina	9,3±0,5	7,3±0,5	***
Quitosano	9,9±0,4	8,6±1,3	ns
Sig.	ns	ns	

Notas. Tratamiento Control: sin biopolímero de recubrimiento. Resultados expresados como media ± desviación estándar. Sig: significación. Niveles de significación de los ANOVA: ns= $p > 0.05$; *= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$; ***= $p \leq 0.001$.

Tabla 3. Estado oxidativo de la carne fresca de cerdo para 3 tiempos de conservación según el tipo de recubrimiento.

	Control	Con recubrimiento	Sig.
TBA-RS día 1			
Gelatina	0,2±0,1	0,2±0,1	ns
Quitosano	0,1±0,0	0,4±0,2	*

Sig.	ns	ns	
TBA-RS día 5			
Gelatina	0,2±0,1	0,2±0,1	ns
Quitosano	0,1±0,0	0,4±0,1	**
Sig.	ns	*	
TBA-RS día 9			
Gelatina	0,2±0,0	0,4±0,1	*
Quitosano	0,2±0,0	0,8±0,1	***
Sig.	ns	***	
Oxidación de proteínas día 1			
Gelatina	1,1±0,1 ab	0,9±0,1 b	ns
Quitosano	1,1±0,1	1,0±0,1	ns
Sig.	ns	ns	
Oxidación de proteínas día 5			
Gelatina	1,0±0,2	1,0±0,2	ns
Quitosano	1,3±0,2	1,0±0	**
Sig.	*	ns	
Oxidación de proteínas día 9			
Gelatina	0,9±0,2	1,2±0,2	*
Quitosano	1,0±0,1	1,2±0,1	ns
Sig.	ns	ns	

Notas. Tratamiento Control: sin biopolímero de recubrimiento. Resultados expresados como media ± desviación estándar. Unidades de TBAR-S: mg MDA/g de carne; unidades de oxidación proteica: nmol de carbonilos/mg de proteína. Sig: significación. Niveles de significación de los ANOVA: ns= $p > 0.05$; *= $p \leq 0.05$; **= $p \leq 0.01$; ***= $p \leq 0.001$.

Tabla 4. Recuentos de los principales grupos microbianos (\log_{10} UFC/g) en carne fresca de cerdo para 3 tiempos de conservación y según el tipo de recubrimiento protector.

	Control	Con recubrimiento	Sig.
Mesófilos día 1			
Gelatina	5,5±0,7	4,5±0,4	ns
Quitosano	5,7±0,1	4,4±0,3	***
Sig.	ns	ns	
Mesófilos día 5			
Gelatina	4,6±0,2	2,8±0,2	***
Quitosano	6,4±0,1	4,4±0,3	***
Sig.	***	***	

Mesófilos día 9			
Gelatina	6,8±0,1	5,5±0,2	***
Quitosano	7,8±0,3	4,3±0,2	***
Sig.	***	***	
Psicrófilos día 1			
Gelatina	4,2±0,1	4,0±0,5	ns
Quitosano	5,1±0,3	2,7±0,4	***
Sig.	**	**	
Psicrófilos día 5			
Gelatina	4,6±0,3	3,8±1,1	ns
Quitosano	8,7±0,1	3,9±0,3	***
Sig.	***	ns	
Psicrófilos día 9			
Gelatina	6,6±0,3	6,4±0,3	ns
Quitosano	7,6±0,2	ND	***
Sig.	***	***	
Mohos y levaduras día 1			
Gelatina	3,9±0,4	3,5±0,3	ns
Quitosano	3,6±0,2	1,8±0,2	***
Sig.	ns	***	
Mohos y levaduras día 5			
Gelatina	3,7±0,1	3,6±0,5	ns
Quitosano	3,6±0,2	1,7±0,4	***
Sig.	ns	***	
Mohos y levaduras día 9			
Gelatina	4,9±0,1	3,0±0,3	***
Quitosano	3,8±0,2	2,8±0,4	**
Sig.	***	ns	
Coliformes día 1			
Gelatina	2,1±0,4	2,0±0,7	ns
Quitosano	2,5±0,4	nd	***
Sig.	ns	**	
Coliformes día 5			
Gelatina	3,0±0,2	1,1±0,3	***
Quitosano	2,9±0,1	nd	***
Sig.	ns	***	
Coliformes día 9			
Gelatina	3,6±0,4	1,5±0,4	***
Quitosano	2,7±0,3	nd	***
Sig.	**	***	

E. coli día 1			
Gelatina	nd	nd	ns
Quitosano	1,3±0,4	nd	**
Sig.	**	ns	
E. coli día 5			
Gelatina	nd	nd	ns
Quitosano	nd	nd	ns
Sig.	ns	ns	
E. coli día 9			
Gelatina	nd	nd	ns
Quitosano	nd	nd	ns
Sig.	ns	ns	
S. aureus día 1			
Gelatina	ND	ND	ns
Quitosano	2,1±0,2	ND	ns
Sig.	ns	ns	
S. aureus día 5			
Gelatina	ND	ND	ns
Quitosano	2,1±0,2	ND	ns
Sig.	ns	ns	
S. aureus día 9			
Gelatina	2,2±0,3	2,0±0	ns
Quitosano	2,2±0,3	ND	ns
Sig.	ns	sn	

Notas. Tratamiento Control: sin biopolímero de recubrimiento. Resultados expresados como media ± desviación estándar. ND y nd: recuentos por debajo del límite de detección del método: nd <1 log UFC/g; ND <2 log UFC/g. Sig: significación. Niveles de significación de los ANOVA: ns= p > 0.05; *=p ≤ 0.05; **=p ≤ 0.01; ***=p ≤ 0.001.

- Benbettaïeb, N., Chamin, O., Assifaoui, A., Al-assaf, S. & Karbowiak, T. (2016). "Food Hydrocolloids Release of coumarin incorporated into chitosan-gelatin irradiated films" *d e.* 56(2016), 266–276.
- Cardoso, G. P., Andrade, M. P. D., Rodrigues, L. M., Massingue, A. A., Fontes, P. R., Ramos, A. de L. S. & Ramos, E. M. (2019). "Retail display of beef steaks coated with monolayer and bilayer chitosan-gelatin composites". *Meat Science*, 152, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.02.009>
- Cardoso, G. P., Dutra, M. P., Fontes, P. R., Ramos, A. de L. S., Gomide, L. A. de M. & Ramos, E. M. (2016). "Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display". *Meat Science*, 114, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.012>
- Fang, Z., Lin, D., Warner, R. D. & Ha, M. (2018). "Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging". *Food Chemistry*, 260, 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.005>
- Hamann, D., Puton, B. M. S., Comin, T., Colet, R., Valduga, E., Zeni, J., Steffens, J., Junges, A., Backes, G. T. & Cansian, R. L. (2022). "Active edible films based on green tea extract and gelatin for coating of fresh sausage". *Meat Science*, 194(September), 108966. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108966>
- Huang, X. & Ahn, D. U. (2019). "Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health". *Food Science and Biotechnology*, 28(5), 1275–1285. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00631-7>
- Hwang, S. I. & Hong, G. P. (2020). "Effects of high pressure in combination with the type of aging on the eating quality and biochemical changes in pork loin". *Meat Science*, 162(December 2019), 108028. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108028>
- Khan, M. I., Min, J. S., Lee, S. O., Yim, D. G., Seol, K. H., Lee, M. & Jo, C. (2015). "Cooking, storage, and reheating effect on the formation of cholesterol oxidation products in processed meat products". *Lipids in Health and Disease*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0091-5>
- Kim, H. W., Kim, J. H., Seo, J. K., Setyabrata, D. & Kim, Y. H. B. (2018). "Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins". *Meat Science*, 139(July 2017), 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.024>

- Lindahl, G., Karlsson, A. H., Lundström, K. & Andersen, H. J. (2006). "Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds". *Meat Science*, 72(4), 603–612. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.09.018>
- Martillanes, S., Rocha-Pimienta, J., Llera-Oyola, J., Gil, M. V., Ayuso-Yuste, M. C., García-Parra, J. & Delgado-Adámez, J. (2021). "Control of *Listeria monocytogenes* in sliced dry-cured Iberian ham by high pressure processing in combination with an eco-friendly packaging based on chitosan, nisin and phytochemicals from rice bran" *Food Control*, 124(January). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107933>
- Montaño-Sánchez, E., Torres-Martínez, B. del M., Vargas-Sánchez, R. D., Huerta-Leidenz, N., Sánchez-Escalante, A., Beriain, M. J. & Torrescano-Urrutia, G. R. (2020). "Effects of chitosan coating with green tea aqueous extract on lipid oxidation and microbial growth in pork chops during chilled storage". *Foods*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/foods9060766>
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S. & Stadtman, E. R. (1987). "Age-related changes in oxidized proteins". *Journal of Biological Chemistry*, 262(12), 5488–5491. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)45598-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)45598-6)
- Ouattar, B., Simard, R. E., Pielt, G., Bégin, A. & Holley, R. A. (2000). "Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan". *International Journal of Food Microbiology*, 62(1–2), 139–148. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00407-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00407-4)
- Paparella, A., Mazzarrino, G., Chaves-López, C., Rossi, C., Sacchetti, G., Guerrieri, O. & Serio, A. (2016). "Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork". *Food Microbiology*, 59, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.05.007>
- Saharan, V., Mehrotra, A., Khatik, R., Rawal, P. Sharma, S. S. & Pal, A. (2013). "Synthesis of chitosan based nanoparticles and their in vitro evaluation against phytopathogenic fungi". *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 677–683. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.012>

- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F. & Dawson, L. E. (1987). "Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry". *Poultry Science*, 66(9), 1483–1488. <https://doi.org/10.3382/ps.0661483>
- Sathiyabama, M. & Parthasarathy, R. (2016). "Biological preparation of chitosan nanoparticles and its in vitro antifungal efficacy against some phytopathogenic fungi". *Carbohydrate Polymers*, 151, 321–325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.033>
- Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P. & Estévez, M. (2015). "Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 106–122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>
- Tikk, K., Lindahl, G., Karlsson, A. H. & Andersen, H. J. (2008). "The significance of diet, slaughter weight and aging time on pork colour and colour stability". *Meat Science*, 79(4), 806–816. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.11.015>
- Wang, H., Ding, F., Ma, L. & Zhang, Y. (2021). "Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application". *Food Bioscience*, 40, 100871. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100871>
- Xiong, Y., Chen, M., Warner, R. D. & Fang, Z. (2020). "Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatin edible coating and its effect on cold storage of fresh pork". *Food Control*, 110. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107018>
- Zhang, H., Liang, Y., Li, X. & Kang, H. (2020). "Effect of chitosan-gelatin coating containing nano-encapsulated tarragon essential oil on the preservation of pork slices". *Meat Science*, 166 (March), 108137. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108137>