

Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați
Școala doctorală de Științe Fundamentale și Inginerești



TEZĂ DE DOCTORAT

**CERCETĂRI PRIVIND FOLOSIREA UNOR EXTRACTE ȘI
PULBERI VEGETALE CA ANTIOXIDANTE NATURALE ÎN
PRODUSE DIN CARNE CRUDE ȘI PROCESATE**

(Rezumatul tezei de doctorat)

Doctorand

Boruzi Andrei Iulian

**Conducător științific,
Referenți științifici**

Prof univ.dr. NOUR VIOLETA
Prof univ.dr. RÂPEANU GABRIELA
Prof univ.dr. POIANĂ MARIANA ATENA
Prof univ.dr. CODINĂ GEORGIANA GABRIELA

Seria I 7 Ingineria produselor alimentare Nr. 9

GALAȚI

2020

Seriile tezelor de doctorat sustinute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

Domeniul ȘTIINȚE INGINEREȘTI

Seria I 1: **Biotehnologii**

Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**

Seria I 3: **Inginerie electrică**

Seria I 4: **Inginerie industrială**

Seria I 5: **Ingineria materialelor**

Seria I 6: **Inginerie mecanică**

Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**

Seria I 8: **Ingineria sistemelor**

Seria I 9: **Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală**

Domeniul ȘTIINȚE ECONOMICE

Seria E 1: **Economie**

Seria E 2: **Management**

Domeniul ȘTIINȚE UMANISTE

Seria U 1: **Filologie- Engleză**

Seria U 2: **Filologie- Română**

Seria U 3: **Istorie**

Seria U 4: **Filologie - Franceză**

Domeniul MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII

Seria C: **Chimie**

CUPRINS	Pag. Rezumat	Pag. Teză
I. INTRODUCERE	5	7
II. STUDIU DOCUMENTAR	6	14
CAPITOLUL 1	6	14
IMPACTUL CONSUMULUI DE CARNE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE	6	14
CAPITOLUL 2	7	17
OXIDAREA LIPIDELOR ÎN CARNE ȘI PRODUSE DIN CARNE	7	17
CAPITOLUL 3	8	22
ÎMBUNĂTĂȚIREA VALORII FUNCȚIONALE A PRODUSELOR DIN CARNE PRIN ADAOSUL DE EXTRACTE NATURALE CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE		22
3.1. Încorporarea ingredientelor funcționale în carne și produse din carne	8	22
3.2. Utilizarea antioxidanților naturali în carne și produse din carne	8	23
CAPITOLUL 4	9	31
FILME ȘI ACOPERIRI COMESTIBILE PENTRU ÎMBUNĂTĂȚIREA CALITĂȚII CĂRNII ȘI PRODUSELOR DIN CARNE	9	31
4.1. Folosirea filmelor și acoperirilor comestibile în industria cărnii	9	31
4.2. Filme și acoperiri comestibile pe bază de chitosan	9	33
III. REZULTATE EXPERIMENTALE	10	35
CAPITOLUL 5	10	35
OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA UNOR EXTRACTE ȘI PULBERI VEGETALE PENTRU UTILIZARE ÎN PRODUSE DIN CARNE CRUDE ȘI PROCESATE	10	35
5.1. Oportunitatea studiului	10	35
5.2. Materiale și metode de analiză	10	36
5.3. Rezultate și discuții	11	38
5.4. Concluzii parțiale	12	43
CAPITOLUL 6	14	44
INFLUENȚA ADAOSULUI DE PULBERE DIN FRUNZE DE NUC ASUPRA UNOR CARACTERISTICI FIZICO-CHIMICE ȘI SENZORIALE ALE CĂRNII DE PORC TOCATE GĂTITE ASUPRA EVOLUȚIEI ACESTORA ÎN TIMPUL PĂSTRĂRII	14	44
6.1. Oportunitatea studiului	14	44
6.2. Materiale și metode de analiză	14	46
6.3. Rezultate și discuții	15	49
6.4. Concluzii parțiale	20	58
CAPITOLUL 7	21	59
EFECTELE EXTRACTELOR DIN FRUNZE DE NUC ȘI CODITE DE	21	59

CIREȘE ASUPRA CULORII, OXIDĂRII LIPIDELOR ȘI CALITĂȚII SENZORIALE A CHIFTELELOR DE PORC GĂTITE		
7.1. Oportunitatea studiului	21	59
7.2. Materiale și metode de analiză	21	60
7.3. Rezultate și discuții	21	62
7.4. Concluzii parțiale	26	69
CAPITOLUL 8	27	70
ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A PULBERII DIN FRUNZE DE NUC ȘI A EXTRACTELOR DE FRUNZE DE NUC ȘI COZI DE CIREȘE ÎN CHIFTELE GĂTITE DIN CARNE DE PORC	27	70
8.1. Oportunitatea studiului	27	70
8.2. Materiale și metode de analiză	27	71
8.3. Rezultate și discuții	28	71
8.4. Concluzii parțiale	29	76
CAPITOLUL 9	30	78
EFICACITATEA FRUNZELOR DE NUC ȘI A CODIȚELOR DE CIREȘE CA ANTIOXIDANȚI NATURALI ÎN CARNE DE PORC CRUDĂ ÎN TIMPUL DEPOZITĂRII ÎN STARE CONGELATĂ	30	78
9.1. Oportunitatea studiului	30	78
9.2. Materiale și metode de analiză	30	79
9.3. Rezultate și discuții	30	81
9.3. Concluzii parțiale	33	84
CAPITOLUL 10	34	85
EFACTUL ACOPERIRII CU FILME PE BAZĂ DE CHITOSAN ÎMBOGĂȚIT CU EXTRACTE DIN FRUNZE DE NUC ȘI CODIȚE DE CIREȘE ASUPRA CALITĂȚII CHIFTELELOR DE PORC PRECOAPTE	34	85
10.1. Oportunitatea studiului	34	85
10.2. Materiale și metode de analiză	34	86
10.3. Rezultate și discuții	34	88
10.4. Concluzii parțiale	37	92
CAPITOLUL 11	38	93
CONCLUZII FINALE	38	93
CAPITOLUL 12	39	94
CONTRIBUȚII ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRIILOR	39	94
CAPITOLUL 13	40	96
DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETĂRIILOR EFECTUATE PE TEMATICA TEZEI DE DOCTORAT	40	96
BIBLIOGRAFIE	42	98

Cuvinte cheie: extracte de plante, produse din carne, oxidare a lipidelor, pH, culoare, activitate antioxidantă, polifenoli, codițe de cireșe, frunze de nuc, depozitare frigorifică, filme comestibile

I. INTRODUCERE

Deși carnea este un produs alimentar sănătos, având în componență proteine cu valoare biologică ridicată, un conținut ridicat de minerale esențiale și vitamine din grupul B, aceasta este lipsită de antioxidanți. Oxidarea lipidică reprezintă una dintre cauzele deteriorării cărnii și preparatelor din carne deoarece este însoțită de apariția unui număr mare de modificări nedorite de aromă, textură și valoare nutritivă. Viteza oxidării lipidice poate fi efectiv redusă prin utilizarea de antioxidanți. Antioxidanții sintetici au fost folosiți pe scară largă în industria cărnii, dar îngrijorările consumatorilor cu privire la siguranța și toxicitatea produselor au determinat industria alimentară să caute alternative naturale. Ca urmare, unele ingrediente naturale, inclusiv ierburile și condimentele, au fost studiate, în special în țările asiatice, ca produse potențiale antioxidante în carne și produsele din carne. Cercetările au arătat că antioxidanții naturali extrași din plante pot fi utilizați ca alternative la antioxidanții sintetici datorită efectului lor echivalent sau chiar mai mare asupra inhibării oxidării lipidice. Compușii din ierburi și condimente conțin multe substanțe fitochimice care au activități antioxidante, antiinflamatoare și anticancerigene. În sistemele alimentare, ele pot îmbunătăți aroma, pot întârzia deteriorarea alimentelor indusă de oxidarea lipidelor, pot inhiba creșterea microorganismelor și pot juca roluri în reducerea riscului unor afecțiuni. Aceste câteva considerații prezentate evidențiază oportunitatea și importanța studiilor legate de îmbogățirea cărnii și produselor din carne cu compuși bioactivi cu beneficii pentru sănătate prin încorporarea de pulberi și extracte vegetale.

Studiile dezvoltate în această lucrare au pornit de la ipoteza că extractele de plante, cu un conținut ridicat de substanțe fitochimice specifice, obținute din diverse materiale vegetale, vor avea efecte antioxidante și antimicrobiene sinergice, vor inhiba creșterea bacteriilor patogene și de alterare și evoluția proceselor oxidative în diferite produse din carne și vor îmbunătăți calitatea și siguranța cărnii. De asemenea, s-a pornit de la ipoteza că încorporarea extractelor complexe de plante cu proprietăți antioxidante în produsele din carne prelucrate va avea ca rezultat obținerea unor produse mai sănătoase datorită scăderii nivelului de oxidare din carne, prevenind astfel reacțiile inflamatorii, fără a afecta semnificativ caracteristicile senzoriale ale acestora. Ca urmare, studiile dezvoltate în cadrul acestei teze de doctorat au avut ca obiectiv principal îmbunătățirea valorii funcționale a produselor din carne prin adaosul de pulberi și extracte naturale cu proprietăți antioxidante.

Au fost luate în studiu frunzele de nuc și codițele de cireșe deoarece acestea sunt recunoscute pentru proprietățile lor terapeutice, conținutul lor în compuși biologic activi și activitatea antioxidantă ridicată.

În contextul cercetărilor actuale, teza de doctorat și-a propus următoarele obiective științifice specifice:

- Obținerea și caracterizarea unor extracte și pulberi vegetale pentru utilizare în produse din carne crude și procesate;
- Studiul efectelor încorporării de pulberi și extracte din frunze de nuc și cozi de cireșe asupra unor caracteristici fizico-chimice și senzoriale ale chiftelelor din carne de porc gătite
- Evaluarea activității antimicrobiene a pulberii din frunze de nuc și a extractelor de frunze de nuc și cozi de cireșe în chiftelele gătite din carne de porc
- Studiul eficacității frunzelor de nuc și a cozilor de cireșe ca antioxidanți naturali în carnea de porc tocată crudă în timpul depozitării în stare congelată
- Efectele acoperirii cu filme pe bază de chitosan îmbogățit cu extracte din frunze de nuc și cozi de cireșe asupra calității chiftelelor din carne de porc precoapte

II. STUDIU DOCUMENTAR

CAPITOLUL 1

IMPACTUL CONSUMULUI DE CARNE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE

În prezent, consumatorii acordă o importanță tot mai mare tuturor aspectelor care pot contribui la îmbunătățirea calității vieții iar dieta, deși nu este singurul element care influențează bunăstarea și sănătatea, este unul dintre cele mai importante. Factorii care au favorizat această evoluție includ impactul actual extrem de mare asupra opiniei publice a rapoartelor mass-media privind relația dintre dietă și sănătate, creșterea speranței de viață a populației (aceasta generează consumatori cu putere de cumpărare ridicată care au probleme de sănătate mai mari și sunt foarte motivați să participe la inițiative menite să mențină sănătatea), o atenție sporită pentru prevenirea bolilor etc. Această situație se află în spatele dezvoltării spectaculoase a produselor "sănătoase", respectiv produse care trebuie să posede una dintre următoarele caracteristici: compoziție modificată și/sau condiții de prelucrare astfel încât să prevină sau să limiteze prezența anumitor compuși potențial dăunători și/sau posibilitatea de a include anumite substanțe dorite, care prezintă beneficii suplimentare pentru sănătate, fie în mod natural, fie prin adăugare. Acest concept include și acele produse alimentare cunoscute ca "alimente funcționale". Acestea sunt definite ca alimente care ajută la prevenirea și tratarea unor afecțiuni și boli, în afară de valoarea lor nutrițională per se. De fapt, aceasta nu este o idee nouă, de secole omenirea folosește proprietățile unor alimente pentru a trata, atenua sau preveni bolile. Cu toate acestea, volumul mare de dovezi științifice care indică relația dintre consumul de alimente și incidența bolilor a generat un interes în creștere pentru produsele alimentare care conferă beneficii fiziologice suplimentare.

Carnea și produsele din carne sunt surse importante de proteine, vitamine și minerale, dar contribuie, de asemenea, la aportul de grăsimi, acizi grași saturați, colesterol, sare etc. Pentru a produce produse din carne "mai sănătoase", trebuie să avem o bună înțelegere a avantajelor și dezavantajelor acestora în ceea ce privește sănătatea [1].

Ca orice alt produs alimentar, carnea și produsele din carne conțin elemente care, în anumite condiții și în proporții necorespunzătoare, pot afecta negativ sănătatea umană. Unele dintre acestea sunt constituenți (naturale sau altele) prezente în animalele vii, de exemplu grăsimi, colesterol, reziduuri de la poluarea mediului sau utilizarea de produse farmaceutice etc. Altele sunt adăugate produsului în timpul procesării din motive tehnologice, microbiologice sau senzoriale (sare, nitrit, fosfat etc.). Există un al treilea grup care este produs prin tratamentul tehnologic utilizat (incluzând contaminanți din dezinfectanți sau detergenți, compuși toxici formați în timpul procesării etc.). În final, sunt aceia care se formează în special în faza de depozitare/comercializare, precum dezvoltarea unor bacterii patogene, formarea anumitor produse de oxidare a lipidelor și migrarea compușilor din materialul de ambalare în produs.

CAPITOLUL 2

OXIDAREA LIPIDELOR ÎN CARNE ȘI PRODUSE DIN CARNE

Oxidarea lipidelor este principala cauză a deteriorării calității cărnii în timpul depozitării și prelucrării [2]. Produsele de oxidare primară și secundară modifică aroma, culoarea, textura și diminuează calitatea nutrițională [3].

Oxidarea lipidică este un proces foarte complex, inițiat prin peroxidarea acizilor grași nesaturați din membranele fosfolipidice, pentru a forma produse primare de oxidare, hidroxiperoxizi. Aceștia se descompun formând produse secundare de oxidare, cum ar fi aldehidele, cetonele, alchenele și alcoolii, care determină mirosuri neplăcute ce afectează în mod negativ acceptabilitatea și calitatea generală a cărnii și a produselor din carne [4]. Reacțiile responsabile pentru oxidarea mioglobinei și a lipidelor generează produse care pot acționa la rândul lor pentru a accelera oxidarea [5]. Prin urmare, se adaugă antioxidanți pentru a menține calitatea și durata de depozitare a cărnii și a altor produse bogate în lipide. Antioxidanții sunt capabili să stabilizeze radicalii liberi prin donarea de hidrogen (H) la radicalii liberi sau prin acceptarea electronilor de la radicalii liberi pentru a forma complexe [6]. Antioxidanții sunt adesea consumați în timpul procesării și depozitării cărnii. Astfel, adăugarea lor la produsul final este o strategie utilizată pentru a minimiza deteriorarea în timpul depozitării și, în consecință, pentru a mări durata de valabilitate a produsului [4]. Antioxidanții sintetici au fost utilizați pe scară largă pentru a minimiza oxidarea lipidelor în alimente. Cu toate acestea, datorită preocupării din ce în ce mai mari cu privire la siguranța substanțelor chimice sintetice, utilizarea compușilor naturali cu activitate antioxidantă este preferată și a atras atenția cercetătorilor [7, 8, 9]. Ca urmare, s-a acordat o atenție sporită cercetării substanțelor naturale care pot acționa ca antioxidanți alternativi. Adăugarea de antioxidanți naturali proveniți din extracte vegetale ca modalitate de creștere a duratei de valabilitate a produselor alimentare a devenit din ce în ce mai populară. De asemenea, prin folosirea lor s-a îmbunătățit stabilitatea lipidelor și a alimentelor care conțin lipide, prevenind astfel pierderea calității senzoriale și nutriționale [10, 11, 12].

Cercetările cu privire la antioxidanții naturali s-au intensificat în ultimii ani; acești antioxidanți pot fi găsiți în orice parte a plantelor, precum cereale, fructe, nuci, semințe, frunze, rădăcini și scoartă. Majoritatea antioxidanților naturali sunt compuși fenolici, iar cei mai importanți sunt tocoferolii, flavonoidele și acizii fenolici. Toate sunt în general comune tuturor surselor de plante. Acestea sunt adăugate la o mare varietate de alimente, pentru a preveni sau întârzia oxidarea lipidelor.

Compușii fenolici prezenți în antioxidanții naturali au o activitate puternică de donare a $H\cdot$ sau au o capacitate mare de absorbție a radicalilor [13]. Principalii compuși fenolici antioxidanți sunt: acizii fenolici, diterpenele fenolice, flavonoidele și uleiurile volatile. Unii compuși fenolici împiedică formarea radicalilor liberi și propagarea ROS, în timp ce alții elimină radicali liberi și chelează prooxidanții (metalele de tranziție) [14]. Acizii fenolici captează radicalii liberi, flavonoidele elimină radicalii liberi și chelează metalele (Fe^{2+} , Fe^{3+} și Cu^{2+}). Potențialul antioxidant al acestor compuși naturali (compuși fenolici) depinde de structura scheletului lor și de grupările funcționale de pe acest schelet [15]. De exemplu, numărul și locația grupărilor hidroxil ($-OH$) libere pe scheletul flavonoid determină potențialul de eliminare a radicalilor liberi [16]. Prezența mai multor grupări $-OH$ și a structurilor orto-3,4-dihidroxi sporesc potențialul antioxidant al compușilor fenolici proveniți din plante [17, 18].

CAPITOLUL 3

ÎMBUNĂTĂȚIREA VALORII FUNCȚIONALE A PRODUSELOR DIN CARNE PRIN ADAOSUL DE EXTRACTE NATURALE CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE

3.1. Încorporarea ingredientelor funcționale în carne și produse din carne

Creșterea preocupărilor consumatorilor privind starea de sănătate și efectele fiziologice ale alimentelor sau componentelor alimentare asupra acesteia, și tendința de a consuma alimente funcționale a condus la necesitatea de a furniza cărnii și produselor din carne o serie de proprietăți benefice pentru sănătate și chiar la încercarea de a schimba imaginea acestora în rândul consumatorilor. Includerea de ingrediente funcționale în carne și preparate din carne vizează nu numai furnizarea anumitor proprietăți dorite dar și încercarea de schimba imaginea nefericită a acestora în rândul consumatorilor. Această imagine este determinată în special de conținutul de grăsime, de acizi grași saturați și colesterol și asocierea lor cu bolile cardiovasculare, unele tipuri de cancer, obezitate și altele.

Modificările la care carnea poate fi supusă pentru a-i conferi proprietăți funcționale se bazează pe schimbări ale hranei animalelor sau pe manipularea post-mortem a carcaselor. În ce privește prima modalitate, aceasta poate conduce la modificarea conținutului de lipide, acizi grași și vitamina E a cărnii în timp ce în cadrul celei de-a doua modalități, grăsimea poate fi modificată prin procese mecanice.

În privința preparatelor din carne, eforturile sunt direcționate în special către reformularea lor prin modificarea conținutului de lipide și acizi grași și/sau prin adaosul unor ingrediente funcționale (fibre, proteine vegetale, acizi grași mononesaturați sau polinesaturați, vitamine, calciu, substanțe fitochimice, etc.).

3.2. Utilizarea antioxidanților naturali în carne și produse din carne

Antioxidanții din surse naturale oferă o alternativă bună la antioxidanții convenționali, datorită conținutului ridicat de compuși fenolici și de alte ingrediente active, care pot preveni eficient inițierea sau propagarea reacțiilor de oxidare a lipidelor. Unii dintre acești antioxidanți au arătat că prezintă proprietăți antioxidante mai puternice decât BHA/BHT. Rezultatele obținute în aceste studii au arătat că diverși antioxidanți naturali exercită efecte pozitive sau negative asupra culorii și proprietăților senzoriale ale produselor din carne.

Antioxidanții naturali extrași din plante pot fi utilizați ca alternative la antioxidanții sintetici datorită efectului lor echivalent sau chiar mai mare asupra inhibării oxidării lipidice [19].

În numeroase studii s-a demonstrat că acești antioxidanți naturali au fost foarte eficienți în prevenirea oxidării lipidelor, în comparație cu un anumit martor pozitiv (BHA / BHT), în diferite condiții de depozitare.

CAPITOLUL 4

FILME ȘI ACOPERIRI COMESTIBILE PENTRU ÎMBUNĂȚIREA CALITĂȚII CĂRNII ȘI PRODUSELOR DIN CARNE

4.1. Folosirea filmelor și acoperirilor comestibile în industria cărnii

Acoperirea alimentelor cu materiale comestibile a fost propusă și studiată ca metodă eficientă de îmbunătățire a calității alimentelor [20].

Acoperirile și filmele comestibile/biodegradabile produse din polizaharide, proteine și/sau ceruri și derivați lipidici pot funcționa ca bariere eficiente împotriva umidității și/sau oxigenului. Acoperirile comestibile sunt și ecologice, evitându-se efectele negative cauzate de materialele de ambalare care nu sunt regenerabile [21, 22, 23]. Prin urmare, acestea pot reprezenta metode de ambalare alternativă care pot fi utilizate pentru menținerea calității și prelungirea termenului de valabilitate al alimentelor.

Diferite tipuri de acoperiri și filme au fost testate în încercarea de a menține calitatea produselor din carne. Studiile publicate au arătat că acoperirile comestibile pot îmbunătăți substanțial calitatea cărnii și pot fi utilizate ca matrice de încapsulare a compușilor bioactivi, permițând eliberarea lor controlată. Prin această strategie, compușii bioactivi sunt puși la dispoziție într-un loc și într-un timp dorit la o rată specifică [24]. Această aplicație este un instrument interesant nu numai pentru a prelungi durata de valabilitate și a reduce riscul de dezvoltare a agenților patogeni pe suprafețele produselor alimentare, ci și pentru a oferi consumatorului un produs funcțional, cu beneficii pentru sănătate.

Amidonul, alginatul, dextrinele, pectina, chitosanul și carrageenani sunt utilizați în filme și acoperiri comestibile. Polizaharidele solubile în apă sunt polimeri cu lanț lung care sunt utilizați în mod obișnuit în alimente pentru proprietățile de îngroșare și/sau gelificare [25, 26, 27]. Filmele polizaharidice reprezintă bariere bune pentru gaze și prezintă rezistență la grăsimi și uleiuri; cu toate acestea, natura lor hidrofilă le face bariere slabe pentru vapori de apă [28]. Acestea au fost utilizate pentru a prelungi termenul de valabilitate al produselor din carne prin întârzierea deshidratării, a râncezării oxidative și a brunificării de suprafață.

4.2. Filme și acoperiri comestibile pe bază de chitosan

Chitosanul este un polizaharid cationic cu masă moleculară mare, care prezintă activitate antibacteriană [29, 30] și activitatea antifungică [31], precum și proprietăți de formare a peliculelor [32, 33]. Numeroase informații au fost raportate cu privire la potențialul chitosanului de a acționa ca și conservant alimentar, funcție care a fost evaluată pe baza studiilor *in vitro* sau prin aplicarea directă a chitosanului pe produsele alimentare [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40].

Datorită bunei capacități de formare a filmului de către chitosan, acesta a fost utilizat în mod extensiv pentru a proteja, a îmbunătăți calitatea și a prelungi durata de valabilitate a alimentelor proaspete și prelucrate. Rapoartele disponibile cu privire la aplicarea filmelor de chitosan și pectină și la folosirea acoperirilor de chitosan pe produsele din carne sunt totuși limitate.

III. REZULTATE EXPERIMENTALE

CAPITOLUL 5

OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA UNOR EXTRACTE ȘI PULBERI VEGETALE PENTRU UTILIZARE ÎN PRODUSE DIN CARNE CRUDE ȘI PROCESATE

5.1. Oportunitatea studiului

Nucul (*Juglans regia* L.) conține cantități importante de compuși fenolici [41]. Se știe că activitatea antioxidantă este cu atât mai puternică cu cât conținutul de polifenoli este mai ridicat. Diferite lucrări științifice au demonstrat potențialul antioxidant al produselor nucului, respectiv miezului de nucă [41, 42], cojii verzi [43], frunzelor [44, 45, 46]. Frunzele de nuc au fost folosite atât în industria cosmetică, cât și în cea farmaceutică. Studiile anterioare au arătat că atât fructele cât și frunzele soiurilor de nuci românești s-au dovedit a fi o sursă importantă de compuși fenolici [47, 48, 49].

Infuziile și decocturile preparate din cozi de cireșe (*Prunus avium* L.) se utilizează în mod tradițional ca sedative, diuretice și pentru drenare [50, 51], contribuind în special la promovarea unei funcții renale adecvate. Proprietățile antiinflamatorii și diuretice sunt corelate cu conținutul ridicat de antioxidanți naturali, respectiv compuși fenolici (acizi fenolici și flavonoizi) [52], cozile fiind un bun candidat pentru produse nutraceutice sau farmaceutice [53]. Determinarea compușilor fenolici în frunzele de nuc și codițele de cireșe este importantă atât pentru caracterizarea acestora, cât și pentru a facilita utilizarea mai eficientă a acestor importante resurse vegetale.

5.2. Materiale și metode de analiză

Frunzele proaspete de nuc (*Juglans regia* L.) și cozile de cireșe (*Prunus avium* L.) au fost colectate din arborii cultivați în livada experimentală a Universității din Craiova, aflată la Stațiunea de cercetare Râmnicu Vâlcea (România) (45°07'N/24°22'E). Probele au fost spălate și uscate la umbră. Frunzele de nuc și cozile de cireșe uscate au fost transformate prin măcinare într-o pulbere fină. Frunzele de nuc și cozile de cireșe deshidratate au fost analizate din punct de vedere al conținutului total de compuși fenolici, de flavonoide, activității antioxidante și profilului fenolic.

Conținutul total de compuși fenolici din extractele de frunze de nuc și cozi de cireșe s-a determinat colorimetric cu reactivul Folin-Ciocalteu.

Conținutul total de flavonoide a fost determinat prin metoda colorimetrică cu clorură de aluminiu iar rezultatele au fost exprimate în mg

Activitatea antioxidantă a probelor a fost măsurată folosind o procedură ABTS (acid 2,29-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic) iar rezultatele au fost exprimate în mM Trolox/100 g. Profilul fenolic a fost determinat prin HPLC în fază inversă cu detecție diode-array.

Toate analizele au fost efectuate în triplicat iar rezultatele au fost exprimate ca medie ± deviație standard (SD). Datele au fost supuse analizei varianței (ANOVA), iar semnificația diferențelor dintre medii a fost evaluată cu testul comparațiilor multiple Duncan la $p < 0,05$.

5.3. Rezultate și discuții

Conținutul total de compuși fenolici, conținutul total de flavonoide și activitatea antioxidantă

În extractul de frunze de nuc, conținutul total de flavonoide și activitatea antioxidantă au fost mai mari decât în extractul de cozi de cireșe. O situație similară s-a observat și în cazul pulberilor. Frunzele de nuc au fost raportate anterior ca fiind o sursă bogată de flavonoide [54, 55]. Cu toate acestea, conținutul total de compuși fenolici a fost mai mare în extractul și pulberea de cozi de cireșe decât în extractul și respectiv pulberea de frunze de nuc.

*Tabelul 5.1. Conținutul total de compuși fenolici, conținut total de flavonoide și activitatea antioxidantă în extractele și pulberile de frunze de nuc și cozi de cireșe**

Proba	Conținutul total de compuși fenolici (mg GAE/100 g DW)	Conținutul total de flavonoide (mg QE/100 g DW)	Activitatea antioxidantă ABTS (mmol Trolox/100 g DW)
Pulbere din frunze de nuc	2898,28 ± 128,56	1956,76 ± 87,55	16,28 ± 0,87
Pulbere din cozi de cireșe	3334,56 ± 146,21	862,27 ± 48,96	14,62 ± 0,66
Extract din frunze de nuc	497,67 ± 23,34	353,66 ± 16,45	3,67 ± 0,21
Extract din cozi de cireșe	685,66 ± 31,15	145,35 ± 11,19	2,84 ± 0,14

* Valorile sunt exprimate ca medie ± deviație standard.

Variația sezonieră a conținutului total de compuși fenolici în frunzele de nuc

Conținutul total de compuși fenolici a fost determinat în frunzele de nuc deshidratate la opt date de eșantionare (de la 1 iunie la 15 septembrie) iar rezultatele sunt prezentate în tabelul 5.2. Au fost obținute diferențe semnificative statistic între conținutul de compuși fenolici al frunzelor recoltate la diferite momente ($p < 0,05$).

Tabelul 5.2. Variația sezonieră a conținutului total de compuși fenolici al frunzelor de nuc

Data prelevării probelor	Conținutul total de compuși fenolici (mg/g)
1 Iunie	13,47 ± 0,33
15 Iunie	12,77 ± 0,34
1 Iulie	19,68 ± 0,43
15 Iulie	30,77 ± 0,89
1 August	20,75 ± 0,77
15 August	21,44 ± 0,91
1 Septembrie	24,67 ± 0,56
1 Septembrie	24,21 ± 0,62
Media	21,95 ± 1,07

* Valorile sunt exprimate ca medie ± abatere standard

Conținutul total de compuși fenolici a crescut în lunile iunie și iulie, a scăzut în luna august, după care s-a înregistrat o nouă creștere până la începutul lunii septembrie. Valorile au variat între 13,47 mg GAE/g (1 iunie) și 30,77 mg GAE/g (15 iulie) (Tabelul 5.2). Studiile

anterioare au relevat o variație considerabilă în funcție de soi [43] și au scos în evidență de asemenea variația sezonieră a conținutului de compuși fenolici în frunzele de nuc [47, 56, 57]. Aceste variații se presupun a fi efectul schimbării condițiilor de mediu.

Profilul fenolic al frunzelor de nuc și cozilor de cireșe

O cromatogramă a extractului de frunze de nuc este prezentată în figura 5.1.

Rezultatele privind conținutul de acizi fenolici au arătat că acidul elagic a fost cel mai abundent acid fenolic în toate probele, urmat de acizii *trans*-cinamic și clorogenic. În concentrații mai scăzute au fost determinați, în frunzele de nuc, acizii cafeic, ferulic, sinapic, salicilic, siringic, *p*-coumaric, galic și vanilic.

Juglona este cunoscută ca fiind compusul caracteristic al lui *Juglans* spp. și a fost determinată într-o serie de studii în frunzele proaspete de nuc [49, 56]. În ultimul timp, interesul pentru juglonă a crescut, deoarece mai multe studii au arătat că juglona exercită efecte citotoxice și genotoxice împotriva celulelor tumorale, reducând semnificativ proliferarea acestora [58].

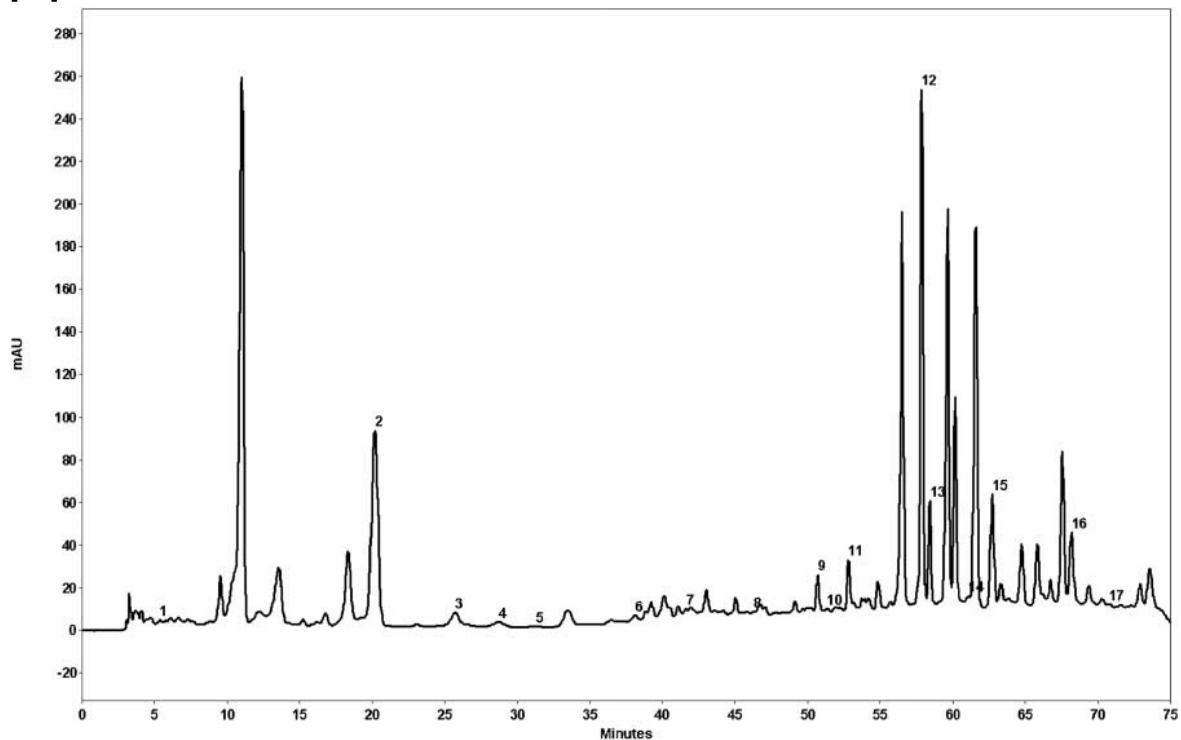


Figura 5.1. Cromatograma extractului de frunze de nuc la $\lambda=278$ nm: 1, acid galic; 2, catechin-hidrat; 3, acid vanilic; 4, acid clorogenic; 5, acid cafeic; 6, acid siringic; 7, epicatechină; 8, acid *p*-coumaric; 9, acid ferulic; 10, acid sinapic; 11, acid salicilic; 12, rutin; 13, acid elagic; 14, miricetină; 15, juglonă; 16, acid *trans*-cinamic; 17, quercetină.

5.4. Concluzii parțiale

Din rezultatele obținute se poate concluziona că pulberile și extractele de frunze de nuc și cozi de cireșe prezintă un conținut ridicat de compuși fenolici și o activitate antioxidantă ridicată, ca urmare acestea pot constitui surse extrem de valoroase de compuși fenolici și pot fi folosite ca antioxidanți naturali alternativi.

Tabelul 5.3. Conținutul de compuși fenolici din frunze de nuc și cozi de cireșe

Compus	Conținut (mg/100 g FW)	
	Frunze de nuc	Cozi de cireșe
Acid vanilic	0,03 ± 0,001	0,11 ± 0,01
Rutin	78,04 ± 3,61	56,67 ± 0,65
Acid elagic	67,34 ± 2,37	33,77 ± 1,10
Miricetină	91,71 ± 1,67	10,64 ± 0,48
Juglonă	48,23 ± 2,45	nd*
Quercetină	3,11 ± 0,07	6,32 ± 0,29
Acid galic	0,39 ± 0,03	4,33 ± 0,19
Catechin-hidrat	304,93 ± 4,58	247,66 ± 7,18
Acid siringic	0,76 ± 0,02	2,91 ± 0,14
Epicatechină	2,17 ± 0,03	1,87 ± 0,09
Acid <i>trans</i> -cinamic	9,58 ± 0,33	44,56 ± 2,09
Acid clorogenic	4,51 ± 0,19	11,88 ± 0,44
Acid caffeic	0,15 ± 0,01	9,11 ± 0,39
Acid <i>p</i> -coumaric	0,42 ± 0,02	16,77 ± 0,78
Acid ferulic	1,56 ± 0,07	5,34 ± 0,26
Acid sinapic	1,18 ± 0,04	20,42 ± 0,55
Acid salicilic	1,80 ± 0,04	0,24 ± 0,02

*nd = nedetectat

De asemenea, se poate concluziona că există o dependență între conținutul fenolic din frunzele de nuc și factorii sezonieri, genetici și ecologici. Rezultatele obținute sugerează că, pentru a fi folosite ca surse de antioxidanți naturali, frunzele de nuc ar trebui colectate preferențial în lunile iulie și începutul lunii septembrie, când conținutul fenolic este mai mare.

Informațiile obținute prin analiza variației sezoniere a conținutului total de compuși fenolici din frunzele de nuc ar putea fi utile în planificarea timpului de colectare a produselor de nuc pentru obținerea extractelor biologic active.

Rezultatele experimentale au indicat că frunzele de nuc proaspete conțin concentrații mari de juglonă, comparabile cu cele raportate în studiile anterioare. Pe baza rezultatelor, acidul elagic a fost stabilit ca acidul fenolic dominant în frunze de nuc. Deși ceilalți acizi fenolici sunt prezenți în concentrații mult mai mici, aceștia pot contribui în mare măsură la activitatea antioxidantă a frunzelor de nuc. Determinările de flavonoide au evidențiat concentrații ridicate de miricetină, catechin-hidrat și rutin și concentrații scăzute de quercetină și epicatechină ca agliconi. În cozile de cireșe, dintre acizii fenolici au dominat acizii *trans*-cinamic, sinapic și *p*-coumaric, în timp ce dintre flavonoide s-au determinat concentrații ridicate de catechin-hidrat și rutin.

Deși prezintă valori mai scăzute ale conținutului total de compuși fenolici, pulberea și extractul de frunze de nuc au avut o activitate antioxidantă mai ridicată, probabil ca urmare a conținutului mai mare de flavonoide față de extractul de cozi de cireșe.

CAPITOLUL 6

INFLUENȚA ADAOSULUI DE PULBERE DIN FRUNZE DE NUC ASUPRA UNOR CARACTERISTICI FIZICO-CHIMICE ȘI SENZORIALE ALE CĂRNII DE PORC TOCATE GĂTITE ȘI ASUPRA EVOLUȚIEI ACESTORA ÎN TIMPUL PĂSTRĂRII

6.1. Oportunitatea studiului

În acest experiment, pulberea de frunze de nuc a fost utilizată ca sursă de antioxidanți naturali în chiftele din carne de porc. Activitatea sa antioxidantă în produsul din carne a fost evaluată în raport cu butilhidroxitoluenul la un nivel de adaos de 0,1% și în raport cu un martor fără adaos antioxidant. Așadar, acest studiu urmărește să evalueze stabilitatea oxidativă și stabilitatea culorii cărnii de porc tocate pre-gătite conținând pulbere de frunze de nuc, la niveluri de adaos de 0,2% (P1) și 0,5% (P2), în raport cu un martor fără adaos antioxidant (M0) și un martor cu adaos de 0,1% butilhidroxitoluen (BHT) (M1).

6.2. Materiale și metode de analiză

Probele de carne tocată (chiftele) au fost produse folosind următoarea rețetă: 73,5% carne de porc macră, 20% slănină de pe spate, 5% gheață și 1,5% sare. Carnea de porc slabă și slăcina de pe spate au fost tocate prin sita cu orificii de 3 mm, apoi s-au adăugat gheața și sarea. Amestecul a fost împărțit în vederea realizării a patru variante experimentale. Astfel, pulberea de frunze de nuc a fost adăugată la nivel de 0% (martor fără adaos de antioxidant - M0), 0,2% (P1), 0,5% (P2) și BHT la nivel de 0,1% (martor cu adaos de antioxidant - M1) în raport cu masa cărnii tocate fără pulbere antioxidantă. Probele au fost malaxate manual timp de 10 minute. Apoi, carnea amestecată a fost cântărită (50 g) și probele au fost formate într-un vas Petri rezultând 40 de chiftele/variantă experimentală. Probele au fost introduse într-un cuptor electric preîncălzit timp de 15 min la 180 °C și lăsate să se coacă timp de 10 min până când carnea a atins $75 \pm 1^\circ\text{C}$ în centru. După scoatere din cuptor, din fiecare lot au fost cântărite aleator 5 chiftele pentru a determina pierderile cantitative la coacere. Chiftelele au fost răcite la temperatura camerei, ambalate aerob în pungi din folie de polietilenă și depozitate la $4 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 15 zile. Randamentul la coacere s-a determinat prin împărțirea masei produsului gătit la masa amestecului crud de carne și a fost exprimat în procente. La momentul inițial precum și după 5, 10 și respectiv 15 zile, probele au fost analizate din punct de vedere senzorial, al culorii, al conținutului total de compuși fenolici, pH-ului, activității antioxidante ABTS și gradului de peroxidare a lipidelor folosind valorile testului TBARS (ThioBarbituric Acid Reactive Substances).

Schimbările de culoare în timpul depozitării au fost monitorizate prin evaluarea parametrilor de culoare CIELab (L, a, b, Hue și Chroma) la un interval de 5 zile timp de 15 zile.

Toate determinările au fost realizate în triplicat iar rezultatele au fost raportate ca medie \pm deviație standard. Datele au fost supuse analizei varianței (ANOVA) care a fost utilizată pentru a evalua efectul adaosurilor și timpului de păstrare. Semnificația diferențelor dintre medii a fost apreciată folosind testul multiplu Duncan la $P < 0,05$. Analiza statistică a datelor a fost realizată folosind programul Statgraphics Centurion XVI software (StatPoint Technologies, VA, USA).

6.3. Rezultate și discuții

Amestecul de tocătură realizat inițial din carne de porc slabă și slănină de pe spate a avut un conținut mediu de 60,08% umiditate, 18,32% proteine și 14,51% grăsime.

Conținutul de umiditate, proteine și grăsimi al chiftelelor procesate termic realizate conform variantelor experimentale este prezentat în tabelul 6.1.

Tabelul 6.1. Conținutul de umiditate, proteine și grăsimi al chiftelelor procesate termic

Tratament	Umiditate (%)	Proteine (%)	Grăsimi (%)	Randament la coacere (%)
M0	51,77 ± 0,59 ^a	22,14 ± 0,30 ^b	17,03 ± 0,22 ^b	78,83 ± 0,55 ^a
M1	52,26 ± 0,38 ^{ab}	21,97 ± 0,48 ^{ab}	16,86 ± 0,38 ^{ab}	79,61 ± 0,84 ^a
P1	53,20 ± 0,47 ^{bc}	21,68 ± 0,22 ^{ab}	16,52 ± 0,34 ^{ab}	81,23 ± 0,48 ^b
P2	53,65 ± 0,63 ^c	21,47 ± 0,35 ^a	16,35 ± 0,28 ^a	82,02 ± 0,71 ^b

*mediile în aceeași coloană însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ (P < 0,05)

Conținutul de umiditate a fost mai mare la probele la care s-a adăugat pudră din frunze de nuc indicând faptul că aceasta a contribuit la retenția de umiditate în produs. Aceste rezultate se corelează cu cele privind randamentul la coacere, care a fost semnificativ mai mare la probele cu adaos de pudră din frunze de nuc. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între probele martor și cele cu adaos de BHT privind conținutul de umiditate, proteine și grăsimi. Cel mai mare conținut de proteine și de grăsimi s-a înregistrat la proba martor, probabil ca rezultat al pierderii mai mari de umiditate la această variantă experimentală.

Variația pH-ului la chiftelele de porc în timpul păstrării în stare refrigerată este prezentată în tabelul 6.2.

Tabelul 6.2. pH-ul probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile

Tratament	Perioada de depozitare în stare refrigerată (zile)			
	0	5	10	15
M0	6,00 ± 0,03 ^a	6,04 ± 0,03	5,93 ± 0,06	5,85 ± 0,05 ^a
M1	6,11 ± 0,03 ^b	6,04 ± 0,02	5,95 ± 0,03	5,97 ± 0,05 ^b
P1	6,03 ± 0,07 ^{ab}	6,06 ± 0,05	5,98 ± 0,03	6,06 ± 0,07 ^{bc}
P2	6,09 ± 0,06 ^{ab}	6,03 ± 0,02	5,97 ± 0,05	6,05 ± 0,04 ^c

*mediile în aceeași coloană însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ (P < 0,05)

Valorile pH-ului au variat între 5,85 și 6,15 în timpul perioadei de păstrare.

Deși nu s-au înregistrat diferențe semnificative între valorile pH-ului diferitelor variante experimentale în timpul primelor 10 zile de păstrare, după 15 zile pH-ul a înregistrat cele mai mici valori la proba martor, în timp ce cele mai mari valori s-au înregistrat la proba cu adaos de 0,5% pulbere de frunze de nuc.

În cursul perioadei de păstrare, nivelul pH-ului a scăzut la proba martor și la proba cu adaos de BHT, în timp ce la probele cu adaos de pudră de frunze de nuc pH-ul a scăzut în primele 10 zile după care a început să crească, fără ca valorile pH-ului după 15 zile de păstrare să difere semnificativ de cele înregistrate inițial. Creșterea pH-ului chiftelelor din carne de porc în timpul păstrării este datorată expunerii grupărilor bazice prin denaturarea

proteinelor. De asemenea, creșterea pH-ului este asociată cu degradarea proteinelor și aminoacizilor de către bacteriile gram-negative [59].

Valorile parametrilor de culoare (L^* , a^* și b^*) precum și nuanța (h) și saturația (C) probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc și variația acestora în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile sunt prezentate în tabelul 6.3.

Tabelul 6.3. Valorile parametrilor de culoare ale probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile

Parametrii de culoare	Tratament	Perioada de depozitare în stare refrigerată (zile)			
		0	5	10	15
L^*	M0	76,00 ± 1,39 ^b	75,85 ± 1,18 ^c	74,04 ± 0,39 ^c	76,73 ± 2,00 ^c
	M1	75,04 ± 1,08 ^b	75,67 ± 0,97 ^{bc}	73,26 ± 2,03 ^c	75,18 ± 0,64 ^c
	P1	74,18 ± 1,40 ^{ab}	73,93 ± 1,33 ^b	70,25 ± 0,98 ^b	69,80 ± 2,44 ^b
	P2	72,23 ± 1,86 ^a	70,60 ± 1,17 ^a	65,27 ± 1,68 ^a	65,51 ± 0,37 ^a
a^*	M0	5,32 ± 0,19 ^b	4,49 ± 0,15 ^b	4,55 ± 0,28 ^b	3,97 ± 0,04 ^b
	M1	6,82 ± 0,22 ^c	6,16 ± 0,09 ^c	5,82 ± 0,05 ^c	5,40 ± 0,10 ^c
	P1	5,26 ± 0,46 ^b	4,54 ± 0,44 ^b	4,75 ± 0,39 ^b	4,16 ± 0,30 ^b
	P2	4,25 ± 0,24 ^a	3,85 ± 0,37 ^a	3,88 ± 0,24 ^a	3,49 ± 0,07 ^a
b^*	M0	13,10 ± 0,35 ^a	13,84 ± 0,14 ^b	14,27 ± 0,41 ^c	13,96 ± 0,28 ^c
	M1	12,87 ± 0,53 ^a	13,42 ± 0,20 ^b	13,37 ± 0,11 ^b	13,21 ± 0,16 ^b
	P1	13,19 ± 0,31 ^a	12,11 ± 0,30 ^a	12,64 ± 0,62 ^{ab}	12,25 ± 0,57 ^a
	P2	13,27 ± 0,52 ^a	12,21 ± 0,54 ^a	12,24 ± 0,66 ^a	12,06 ± 0,05 ^a
C	M0	14,14 ± 0,39 ^a	14,55 ± 0,13 ^b	14,98 ± 0,47 ^b	14,51 ± 0,28 ^b
	M1	14,57 ± 0,58 ^a	14,76 ± 0,21 ^b	14,60 ± 0,07 ^b	14,27 ± 0,18 ^b
	P1	14,20 ± 0,46 ^a	12,93 ± 0,42 ^a	13,50 ± 0,71 ^a	12,94 ± 0,62 ^a
	P2	13,93 ± 0,57 ^a	12,81 ± 0,62 ^a	12,84 ± 0,69 ^a	12,56 ± 0,03 ^a
h	M0	67,89 ± 0,20 ^b	72,03 ± 0,64 ^c	72,33 ± 0,71 ^c	74,14 ± 0,15 ^c
	M1	62,07 ± 0,25 ^a	65,35 ± 0,21 ^a	66,53 ± 0,11 ^a	67,75 ± 0,16 ^a
	P1	68,28 ± 1,27 ^b	69,47 ± 1,45 ^b	69,42 ± 0,77 ^b	71,25 ± 0,72 ^b
	P2	72,25 ± 0,30 ^c	72,56 ± 0,94 ^c	72,44 ± 0,53 ^c	73,87 ± 0,37 ^c

*mediile în aceeași coloană pentru același parametru de culoare însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$)

Culoarea cărnii depinde de concentrația pigmentilor cărnii dar și de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor cărnii și a celor adăugate acesteia. Rezultatul evaluării culorii a relevat un efect semnificativ ($P < 0,05$) al adaosului pulberii din frunze de nuc ca antioxidant natural asupra parametrilor de culoare.

Valorile medii ale luminozității (L^*) la momentul inițial au fost semnificativ mai mari la probele martor față de probele cu adaos de pudră din frunze de nuc, așadar adaosul de pulbere din frunze de nuc a determinat închiderea la culoare a chiftelelor din carne de porc. De asemenea, la acest moment nu au existat diferențe semnificative privind luminozitatea martorului și a martorului cu adaos de BHT. Creșterea concentrației pulberii din frunze de nuc a determinat scăderea valorii luminozității probelor de chiftele din carne de porc. De asemenea, valorile a^* au fost semnificativ mai mari la proba cu adaos de BHT față de martor și semnificativ mai mici la probele cu adaos de pudră de frunze de nuc, fapt explicabil având în

vederea culoarea verde a acesteia. De altfel, valorile a^* au fost semnificativ mai mici la P2 în raport cu P1 datorită conținutului mai mare de pudră de frunze de nuc.

În ce privește variația culorii în cursul păstrării, se constată menținerea sau chiar o ușoară creștere a valorilor luminozității (L^*) la proba martor și proba cu adaos de BHT, în timp ce la probele cu adaos de pulbere de frunze de nuc s-a constatat o scădere a valorilor L (închidere la culoare), mai importantă la proba P2 (0,5% pudră din frunze de nuc). Studii anterioare au arătat că decolorarea cărnii este determinată de procesele oxidative și de sistemele enzimatiche reducătoare [60]. Ca urmare, se poate presupune că, în proba martor, desfășurarea cu intensitate mai mare a proceselor oxidative a determinat decolorarea observată a probelor.

De asemenea, valorile a^* au înregistrat scăderi constante pe perioada de depozitare la toate variantele experimentale. Scăderea valorii a^* poate indica de asemenea modificarea culorii de la roșu la brun, care ar putea fi datorată formării metmioglobinei în probele care conțin sare. Sarea accelerează foarte mult procesul de decolorare a cărnii datorită activității pro-oxidative care poate fi atribuită capacității sale de a elibera fierul din pigmentii hemici și din alte molecule care leagă hem [61].

De remarcat că rata de scădere a parametrului a^* a fost mai mică la proba cu adaos de 0,5% pudră din frunze de nuc în raport cu martorul, fapt ce poate fi un indicator al activității antioxidante a frunzelor de nuc și a rolului său eficace ca ingredient alimentar.

Valorile parametrului b^* au scăzut în cursul depozitării la probele cu adaos de pudră din frunze de nuc dar au crescut la proba martor în timp ce valorile de nuanță (hue) au înregistrat creșteri pe perioada depozitării la toate variantele experimentale, cu cea mai mare rată de creștere la probele martor.

Oxidarea lipidelor se caracterizează prin formarea dienelor conjugate, hidroperoxizilor și aldehydilor [62]. Rezultatele prezentate în tabelul 6.4 arată că oxidarea lipidelor, măsurată prin valorile TBARS, a fost semnificativ întârziată ($P < 0.05$) în chiftelele din carne de porc în cursul depozitării lor în stare refrigerată prin adaosul atât de BHT cât și de pulbere din frunze de nuc în raport cu martorul. Valorile TBARS au variat de la 0,06 la 3,37 MDA mg/kg în decurs de 15 zile la 4 °C.

Tabelul 6.4. Valorile TBARS (mg MDA/kg) ale probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile

Tratament	Perioada de depozitare în stare refrigerată (zile)			
	0	5	10	15
M0	2,81 ± 0,26 ^c	3,02 ± 0,34 ^d	3,28 ± 0,29 ^d	3,37 ± 0,35 ^d
M1	0,31 ± 0,04 ^{ab}	1,36 ± 0,23 ^c	1,74 ± 0,22 ^c	2,06 ± 0,19 ^c
P1	0,32 ± 0,06 ^b	0,82 ± 0,11 ^b	1,23 ± 0,16 ^b	1,34 ± 0,09 ^b
P2	0,06 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,03 ^a

*mediile în aceeași coloană însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$)

Potrivit lui Al-Kahtani [63], produsele din carne pot fi considerate bine conservate în ceea ce privește modificările oxidative, atunci când valorile lor TBARS sunt sub 3 mg MDA/kg. În prezentul experiment, numai martorul a avut valori mai mari de 3 mg MDA/kg, indicând faptul că eșantioanele martor au prezentat o oxidare avansată și au fost nepotrivite pentru consum.

Valorile TBARS ale chiftelelor realizate cu adaos de pulbere din frunze de nuc au fost semnificativ mai reduse în raport cu cele fără adaos. La momentul inițial, valorile TBARS ale probelor cu 0,2% pulbere din frunze de nuc au fost comparabile cu cele ale probelor realizate cu adaos de 0,1% BHT, în timp ce valorile TBARS ale probelor realizate cu adaos de 0,5% pulbere de frunze de nuc au fost mult mai scăzute.

În ce privește evoluția în cursul păstrării chiftelelor în stare refrigerată, valorile TBARS au crescut odată cu prelungirea duratei de păstrare. Creșterea valorilor TBARS în probele cu adaos de 0,5% pulbere de frunze de nuc a fost foarte lentă și a rămas cea mai redusă (0,15 mg malonaldehidă per kg de probă) până la 15 zile de depozitare în stare refrigerată. Astfel, eficacitatea pulberii din frunze de nuc în întârzierea degradării oxidative în probele de carne de porc preparată a fost evidentă și comparabilă cu cea a BHT la un nivel de adaos al pulberii de 0,2%. Practic, se pare că un adaos de doar 0,2% pulbere din frunze de nuc exercită un efect de întârziere a oxidării lipidice similar cu adaosul de 0,1% BHT.

Conținutul total de compuși fenolici din chiftelele de carne de porc cu adaos de pulbere din frunze de nuc a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare comparativ cu martorul și martorul cu adaos de BHT (tabelul 6.5.).

Tabelul 6.5. Conținutul total de compuși fenolici al probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile (mg GAE/100 g)

Tratament	Perioada de depozitare în stare refrigerată (zile)			
	0	5	10	15
M0	7,35 ± 0,32 ^a	6,53 ± 0,40 ^{ab}	5,68 ± 0,33 ^a	5,42 ± 0,18 ^a
M1	6,85 ± 0,21 ^a	5,87 ± 0,35 ^a	5,17 ± 0,29 ^a	4,95 ± 0,25 ^a
P1	9,00 ± 0,38 ^b	8,18 ± 0,26 ^b	8,00 ± 0,36 ^b	8,57 ± 0,44 ^b
P2	12,27 ± 0,56 ^c	13,07 ± 0,66 ^c	14,22 ± 0,69 ^c	12,68 ± 0,57 ^c

*mediile în aceeași coloană însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$)

Adaosul de BHT cât și cel de pulbere din frunze de nuc au determinat o creștere semnificativă a activității antioxidante în raport cu martorul (tabelul 6.6). De asemenea, creșterea adaosului de pulbere din frunze de nuc a determinat creșterea semnificativă a activității de captare a radicalilor liberi.

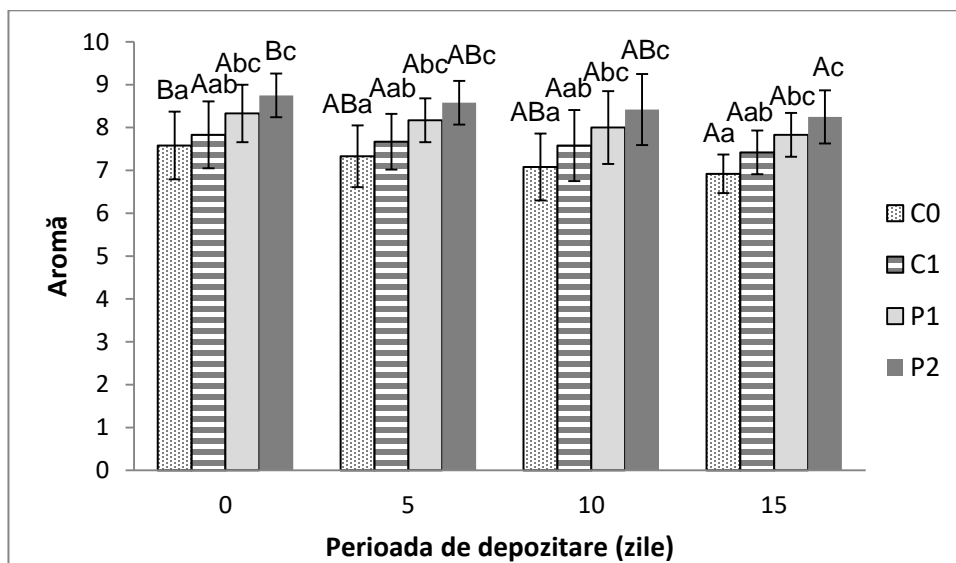
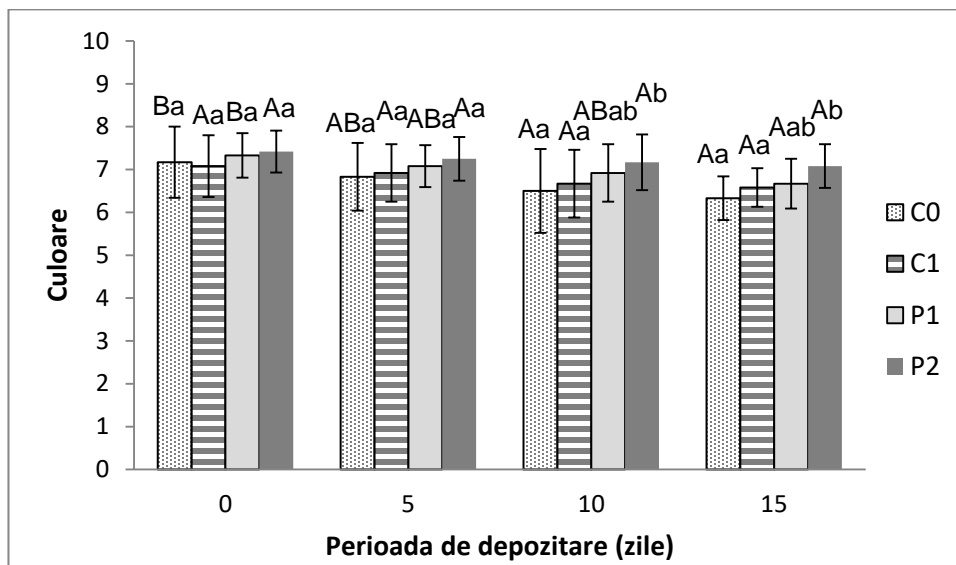
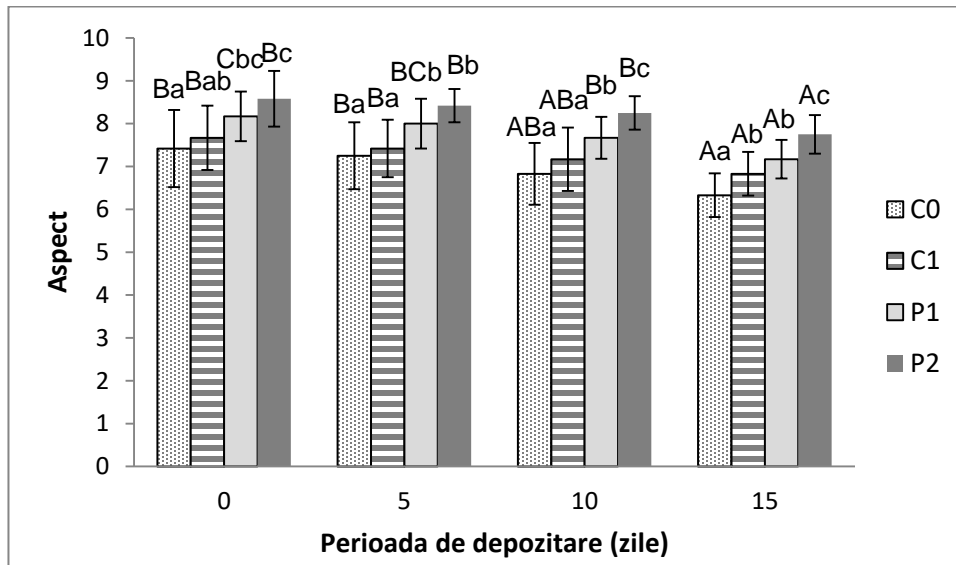
Tabelul 6.6. Activitatea antioxidantă ABTS a probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile (mmol Trolox/100 g)

Tratament	Perioada de depozitare în stare refrigerată (zile)			
	0	5	10	15
M0	0,49 ± 0,03 ^a	0,49 ± 0,02 ^a	0,49 ± 0,02 ^a	0,48 ± 0,02 ^a
M1	0,69 ± 0,03 ^c	0,59 ± 0,03 ^b	0,56 ± 0,02 ^b	0,55 ± 0,02 ^b
P1	0,62 ± 0,02 ^b	0,62 ± 0,03 ^b	0,61 ± 0,02 ^c	0,60 ± 0,02 ^c
P2	0,72 ± 0,03 ^c	0,69 ± 0,02 ^c	0,75 ± 0,03 ^d	0,70 ± 0,03 ^d

*mediile în aceeași coloană însoțite de litere diferite la exponent diferă semnificativ ($P < 0,05$)

Capacitatea de captare a radicalilor liberi nu a fost semnificativ afectată în cursul depozitării, cu excepția probelor cu adaos de BHT, la care s-a înregistrat o scădere constantă.

Adaosul de pulbere din frunze de nuc a avut efecte pozitive asupra aspectului și aromei în timpul depozitării (figura 6.1).



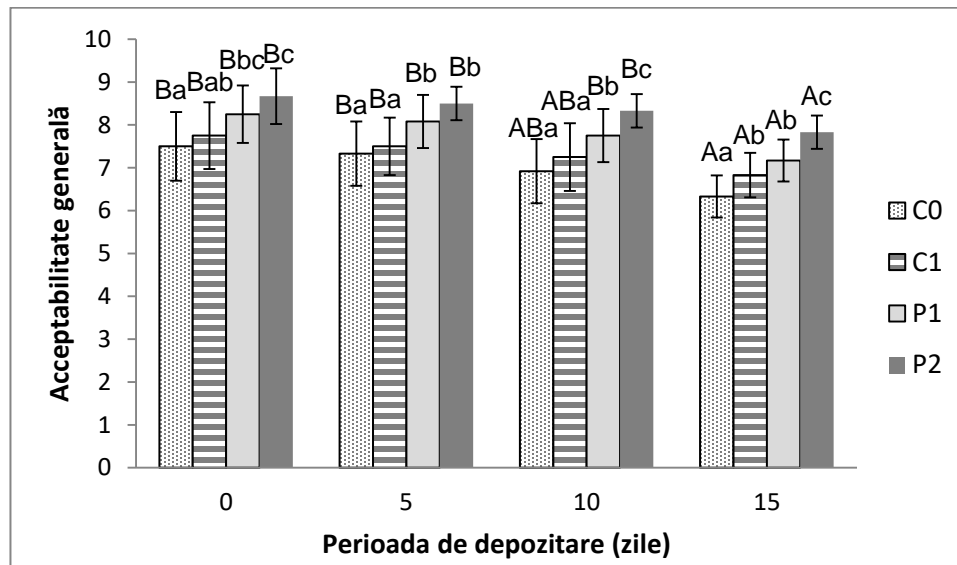


Figura 6.1. Evaluarea senzorială a probelor de chiftele martor și conținând pudră de frunze de nuc în timpul păstrării în stare refrigerată timp de 15 zile. Literile mici diferite indică diferențe semnificative datorate tratamentului ($P < 0,05$), în timp ce literile mari diferite indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare ($P < 0,05$).

Au fost observate diferențe semnificative între începutul și sfârșitul perioadei de depozitare, creșterea duratei de depozitare a determinat scăderea acceptabilității globale a chiftelelor din carne de porc, cu sau fără adaosuri. Cu toate acestea, probele cu adaos de pulbere din frunze de nuc la nivel de 0,5% au prezentat scoruri mai ridicate ale acceptabilității globale și aromei în raport cu martorul, pulberea având potențialul de a reduce râncezirea oxidativă și de a prelungi durata de viață a chiftelelor din carne de porc gătită.

6.4. Concluzii parțiale

Chiftelele din carne de porc tocată, obținute cu adaos de pulbere din frunze de nuc au avut valori mai scăzute ale TBARS comparativ cu martorul în timpul depozitării, așadar pulberea din frunze de nuc a exercitat un efect inhibitor asupra oxidării lipidice de-a lungul întregii perioade de depozitare. De asemenea, valorile TBARS în probele cu adaos de pulbere din frunze de nuc au crescut foarte lent în cursul depozitării timp de 15 zile în stare refrigerată. Rezultatele au arătat că un adaos de 0,2% pulbere de frunze de nuc exercită un efect de întârziere a oxidării lipidice similar cu adaosul de 0,1% BHT.

Pulberea de frunze de nuc a contribuit la retenția de umiditate în produsul finit, fapt care probabil a contribuit la creșterea randamentului la coacere. De asemenea, adaosul a influențat semnificativ culoarea, determinând închiderea la culoare a chiftelelor din carne de porc (scăderea parametrului L^*) și creșterea componentei verzi (scăderea parametrului a^*). Aadaosul de pulbere de frunze de nuc a avut efecte pozitive asupra stabilității oxidative și culorii în carnea de porc tocată gătită în timpul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile.

Adaosul de pulbere din frunze de nuc a avut efecte pozitive asupra aspectului și aromei atât la momentul inițial cât și în timpul depozitării. În concluzie, pulberea din frunze de nuc poate fi un ingredient util în carnea de porc tocată, oferind o sursă de antioxidanți naturali, care sunt siguri și care îmbunătățesc stabilitatea oxidativă a cărnii prelucrate.

CAPITOLUL 7

EFECTELE EXTRACTELOR DIN FRUNZE DE NUC ȘI CODITE DE CIREȘE ASUPRA CULORII, OXIDĂRII LIPIDELOR ȘI CALITĂȚII SENZORIALE A CHIFTELELOR DE PORC GĂTITE

7.1. Oportunitatea studiului

Obiectivul acestui studiu a fost acela de a evalua eficacitatea pulberii din frunze de nuc și extractelor de frunze de nuc și de cozi de cireșe, ca inhibitori ai oxidării lipidelor și ai deteriorării culorii chiftelelor din carne de porc preparate, supuse depozitării în stare refrigerată.

7.2. Materiale și metode de analiză

Carnea de porc macră și slănină tare de pe spate au fost tocate printr-o sită de 3 mm și amestecate pentru a avea o proporție de slănină de 20%. Amestecul a fost împărțit pentru a furniza cinci variante experimentale: I) C0 - Martor (carne + 1,5% sare + 5,5% apă); II) C1 - Martor cu BHT (carne + 1,5% w/w sare + 5,5% apă + 0,1% BHT); III) P1 (carne + 1,5% w/w sare + 5,5% extract de frunze de nuc); IV) P2 (carne + 1,5% w/w sare + 5,5% extract de cozi de cireșe) V) P3 (carne + 1,5% w/w sare + 5,5% apă + 0,5% pulbere de frunze de nuc). După adăugarea tuturor ingredientelor, probele de carne au fost bine malaxate și s-au modelat manual în chiftele (50 g fiecare). Probele au fost plasate într-un cuptor electric lăsate să se coacă timp de 10 minute până când carnea a atins $75 \pm 1^\circ\text{C}$ în centru. După răcirea la temperatura camerei, chiftelele au fost ambalate aerob în pungi de polietilenă. Acestea au fost analizate privind caracteristicile senzoriale, culoarea, conținutul total de compuși fenolici, pH-ul, activitatea antioxidantă ABTS și valoarea substanțelor reactive ale acidului tiobarbituric (TBARS), la 0, 5, 10 și 15 zile de depozitare la 4°C în întuneric.

Toate determinările au fost realizate în triplicat iar rezultatele au fost raportate ca medie \pm deviație standard. Efectele statistic semnificative au fost analizate și mediile au fost comparate folosind testul multiplu Duncan. Semnificația statistică a fost identificată la un nivel de încredere de 95% ($P < 0,05$).

7.3. Rezultate și discuții

Compoziția chimică și randamentul la coacere

Conținutul de umiditate a crescut semnificativ ($P < 0,05$) numai la adăugarea de pulbere din frunze de nuc (tabelul 7.1), ceea ce indică faptul că pulberea a condus la reținerea umidității. Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele privind randamentul la coacere, care a fost semnificativ mai mare în probele cu adaos de pulbere din frunze de nuc. Conținuturile de grăsimi și proteine din probele martor (C0 și C1) au fost mai mari față de cele cu adaosuri ($P < 0,05$), probabil ca rezultat al pierderii mai mari de umiditate în timpul coacerii acestor probe.

Adaosurile au avut un efect semnificativ asupra culorii chiftelelor din carne de porc proaspăt preparate (ziua 0) (tabelul 7.2). Adăugarea BHT a condus la chiftele cu valori L^* semnificativ mai mari, extractul de cozi de cireșe nu a afectat semnificativ luminozitatea, în timp ce pulberea din frunze de nuc și extractul au dus la o culoare mai închisă (L^* mai mic).

Tabelul 7.1. Randamentul la coacere, conținutul de umiditate, proteine și grăsimi din chiftelele de porc

Tratament	Umiditate (%)	Proteine (%)	Grăsimi (%)	Randamentul la coacere (%)
C0	55,39 ± 0,63 ^a	21,68 ± 0,38 ^c	18,62 ± 0,26 ^d	70,8 ± 1,10 ^a
C1	55,61 ± 0,40 ^a	21,43 ± 0,46 ^{bc}	18,39 ± 0,23 ^{cd}	71,2 ± 1,78 ^{ab}
P1	55,96 ± 0,52 ^{ab}	20,86 ± 0,29 ^{ab}	17,48 ± 0,34 ^{ab}	72,8 ± 1,10 ^b
P2	55,82 ± 0,29 ^a	21,12 ± 0,33 ^{abc}	17,88 ± 0,38 ^{bc}	71,2 ± 1,10 ^{ab}
P3	56,71 ± 0,44 ^b	20,46 ± 0,36 ^a	17,14 ± 0,28 ^a	72,8 ± 1,10 ^b

* medii cu superscript diferit în coloană sunt semnificativ diferite (P < 0,05)

Valorile L* inferioare pot afecta acceptabilitatea generală a produselor din carne [64]. BHT și extractele din plante au condus la chiftele cu valori a* semnificativ mai ridicate, în timp ce probele cu pulbere din frunze de nuc au avut cele mai scăzute valori a* datorită culorii verde închis a frunzei de nuc. Valori b* mai mari (P < 0,05) au fost găsite la chiftelele de porc aditivate cu BHT, extract de frunze de nuc sau pulbere din frunze de nuc, în comparație cu marorul. Componenta roșie a culorii (valoarea a*) a scăzut în mod semnificativ (P < 0,05) în timpul perioadei de depozitare la toate tratamentele, ceea ce sugerează că oxidarea pigmentului poate să apară chiar dacă se adaugă antioxidanți.

Tabelul 7.2. Parametrii de culoare ai chiftelelor din carne de porc în timpul depozitării în condiții de refrigerare timp de 15 zile

Parametrii de culoare	Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
		0	5	10	15
L*	C0	71,23 ± 1,49 ^{bA}	79,53 ± 2,82 ^{cB}	80,56 ± 3,11 ^{cB}	78,24 ± 1,32 ^{dB}
	C1	80,28 ± 0,16 ^{dB}	78,10 ± 1,27 ^{cA}	81,09 ± 1,77 ^{cB}	77,58 ± 1,63 ^{dA}
	P1	69,77 ± 1,49 ^{cB}	74,53 ± 1,30 ^{bB}	72,45 ± 0,61 ^{bB}	70,06 ± 1,84 ^{bA}
	P2	71,61 ± 0,71 ^{bA}	73,70 ± 1,05 ^{bB}	74,78 ± 2,09 ^{bB}	73,18 ± 2,22 ^{cB}
	P3	62,31 ± 2,52 ^{aA}	65,00 ± 2,24 ^{aB}	66,57 ± 0,86 ^{aB}	62,87 ± 1,20 ^{aA}
a*	C0	4,47 ± 0,14 ^{aB}	4,82 ± 0,34 ^{bB}	3,31 ± 0,27 ^{aA}	3,15 ± 0,06 ^{aA}
	C1	7,92 ± 0,42 ^{cC}	6,24 ± 0,46 ^{cB}	4,84 ± 0,55 ^{bA}	4,57 ± 0,26 ^{bA}
	P1	5,82 ± 0,47 ^{bA}	6,05 ± 0,33 ^{cB}	5,36 ± 0,26 ^{cA}	5,08 ± 0,31 ^{cA}
	P2	5,93 ± 0,06 ^{cB}	5,87 ± 0,30 ^{cB}	5,84 ± 0,26 ^{cB}	5,10 ± 0,20 ^{cA}
	P3	4,09 ± 0,38 ^{aB}	3,68 ± 0,84 ^{aB}	3,51 ± 0,15 ^{aAB}	2,86 ± 0,43 ^{aA}
b*	C0	13,99 ± 0,32 ^{abAB}	14,06 ± 0,83 ^{aC}	13,83 ± 0,32 ^{bA}	14,71 ± 0,37 ^{bBC}
	C1	15,58 ± 0,43 ^{dB}	15,11 ± 0,53 ^{aAB}	14,52 ± 0,80 ^{cA}	14,67 ± 0,70 ^{bAB}
	P1	15,35 ± 1,02 ^{aA}	16,45 ± 0,42 ^{bD}	14,62 ± 0,44 ^{cB}	15,39 ± 0,54 ^{bC}
	P2	13,00 ± 0,51 ^{cdB}	13,92 ± 0,50 ^{aA}	13,09 ± 0,09 ^{aA}	13,13 ± 0,63 ^{aA}
	P3	14,53 ± 0,97 ^{bcB}	14,43 ± 1,55 ^{aB}	13,69 ± 0,25 ^{abAB}	12,92 ± 0,56 ^{aA}
C	C0	14,69 ± 0,29 ^{aA}	15,81 ± 0,89 ^{aB}	14,22 ± 0,38 ^{aA}	15,05 ± 0,36 ^{bAB}
	C1	17,48 ± 0,26 ^{bB}	16,35 ± 0,62 ^{abA}	15,31 ± 0,90 ^{bA}	15,37 ± 0,75 ^{bcA}
	P1	16,45 ± 1,11 ^{aA}	17,53 ± 0,50 ^{bC}	15,57 ± 0,49 ^{bB}	16,21 ± 0,49 ^{cB}
	P2	14,29 ± 0,49 ^{aB}	15,11 ± 0,58 ^{aA}	14,47 ± 0,45 ^{aA}	14,08 ± 0,65 ^{aA}
	P3	15,11 ± 1,02 ^{aB}	14,90 ± 1,70 ^{aB}	14,13 ± 0,26 ^{aAB}	13,23 ± 0,61 ^{aA}
h	C0	72,27 ± 0,81 ^{cA}	72,29 ± 0,52 ^{cA}	76,55 ± 0,81 ^{dB}	77,92 ± 0,42 ^{cC}
	C1	63,04 ± 1,76 ^{aA}	67,57 ± 1,11 ^{aB}	71,61 ± 1,35 ^{cC}	72,73 ± 0,19 ^{bC}

P1	68,94 ± 0,30 ^{bA}	69,81 ± 0,57 ^{bAB}	69,88 ± 0,42 ^{bB}	71,70 ± 1,37 ^{bC}
P2	68,48 ± 0,65 ^{bC}	67,15 ± 0,32 ^{aB}	66,20 ± 0,36 ^{aA}	68,17 ± 0,46 ^{aC}
P3	74,27 ± 0,91 ^{dA}	75,83 ± 1,85 ^{dAB}	75,63 ± 0,54 ^{dAB}	77,52 ± 1,56 ^{cB}

* Literele mici diferite indică o diferență semnificativă ($p < 0,05$) între diferitele tratamente, în timp ce literele majuscule diferite indică o diferență semnificativă ($p < 0,05$) în cadrul fiecărui tratament între diferite perioade de depozitare.

Valorile pH-ului au variat între 5,79 și 6,29 în decursul a 15 zile de depozitare (tabelul 7.3). La începutul experimentului (ziua 0), valorile pH ale probelor tratate cu extract de frunze de nuc și pulbere din frunze de nuc au fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mici decât în probele martor. Acest efect ar putea fi atribuit nivelului ridicat de acizi fenolici din extractul de frunze de nuc și din pulbere. La toate tratamentele, valorile pH-ului au crescut semnificativ ($p < 0,05$) în decurs de 15 zile de depozitare. Probele cu pulbere din frunze de nuc au atins valori mai mari ale pH-ului ($P < 0,05$) decât probele martor după 15 zile de depozitare, în timp ce nu s-au constatat diferențe semnificative între celelalte probe. Acest lucru se datorează încărcării microbiene mai mari a pulberii din frunze de nuc în raport cu extractele tratate termic.

Conținutul total de compuși fenolici a fost semnificativ mai mare ($P < 0,05$) la tratamentele P1, P2 și P3 în raport cu probele martor C0 (7,17 mg/100 g) și C1 (6,90 mg/100 g). Dintre tratamente, pulberea din frunze de nuc a mărit semnificativ ($P < 0,05$) conținutul de compuși fenolici (15,62 mg GAE/100 g) în chiftelele din carne de porc, urmată de extractele din cozi de cireșe (9,98 mg GAE/100 g) și frunze de nuc (9,72 mg GAE/100 g). Evoluția conținutului fenolic a indicat o scădere continuă și semnificativă ($p < 0,05$) până în a 15-a zi de depozitare. Scăderea procentuală din totalul compușilor fenolici în timpul depozitării a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare în C1 (42,7%), urmat de C0 (41,7%), P2 (40,6%), P3 (32,6%) și P1 (23,0%) (Tabelul 7.3). Aceste rezultate au arătat că tratamentele cu pulbere din frunze de nuc și cu extracte au prezentat conținuturi de compuși fenolici semnificativ ($P < 0,05$) mai mari în timpul perioadei de depozitare.

Activitatea antioxidantă globală a probelor tratate cu pulbere și extracte a fost semnificativ mai mare ($P < 0,05$) chiar și față de eșantioanele cu adaos de BHT (Tabelul 7.3). Activitatea de captare a radicalilor liberi a scăzut în timpul depozitării în toate probele de carne.

După 15 zile de depozitare, activitatea antioxidantă a fost semnificativ mai mare în probele cu adaos de extracte bogate în compuși fenolici și pulbere din frunze de nuc în raport cu probele martor, în timp ce nu s-a constatat o diferență semnificativă între probele martor fără antioxidant și cele cu BHT.

Tabelul 7.3 ilustrează efectul tratamentelor și depozitării asupra gradului de oxidare a lipidelor (valorile TBARS, măsurate în mg de malondialdehidă per kg probă) în chiftelele din carne de porc coapte, depozitate în condiții aerobe timp de 15 zile. Rezultatele arată că oxidarea lipidică, măsurată prin valorile TBARS, a fost întârziată în probele tratate cu antioxidanți. Nivelul inițial de oxidare a lipidelor (în ziua 0) a fost cuprins între 0,88 și 2,56 mg MDA/kg în probele de carne. Valorile TBARS ale chiftelelor din carne de porc coapte preparate cu adaos de pulbere din frunze de nuc și extracte au fost semnificativ mai mici decât cele ale celorlalte probe la momentul inițial. Un efect antioxidant mai puternic a fost observat la adaosul de extract de frunze de nuc față de cel de cozi de cireșe, deoarece a fost atinsă o concentrație de malondialdehidă mai mică la chiftelele de porc (0,98 vs 1,33, pentru P1 și respectiv P2). Aceeași tendință a fost observată în ziua 10 a depozitării, cu diferențe semnificative între probe ($P < 0,05$).

Tabelul 7.3. Valorile TBARS, pH-ul, conținutul total de compuși fenolici și activitatea antioxidantă ABTS a chiftelelor din carne de porc în timpul depozitării în condiții de refrigerare timp de 15 zile*

Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
	0	5	10	15
Valorile TBARS (mg MDA/kg)				
C0	2,56 ± 0,18 ^{dA}	2,74 ± 0,13 ^{dAB}	2,84 ± 0,15 ^{eAB}	3,01 ± 0,26 ^{dB}
C1	1,80 ± 0,11 ^{cA}	2,08 ± 0,14 ^{cB}	2,36 ± 0,09 ^{dC}	2,43 ± 0,18 ^{cC}
P1	0,98 ± 0,08 ^{aA}	1,49 ± 0,09 ^{bB}	1,50 ± 0,10 ^{bB}	1,58 ± 0,12 ^{bB}
P2	1,33 ± 0,12 ^{bA}	1,52 ± 0,06 ^{bA}	1,78 ± 0,14 ^{cB}	1,83 ± 0,15 ^{bB}
P3	0,88 ± 0,06 ^{aA}	0,93 ± 0,05 ^{aA}	1,07 ± 0,08 ^{aB}	1,19 ± 0,08 ^{aB}
pH				
C0	6,03 ± 0,02 ^{bA}	6,02 ± 0,02 ^{aA}	6,07 ± 0,03 ^{aB}	6,16 ± 0,02 ^{aC}
C1	5,95 ± 0,03 ^{bA}	6,05 ± 0,02 ^{aAB}	6,13 ± 0,08 ^{abBC}	6,20 ± 0,09 ^{abC}
P1	5,82 ± 0,08 ^{aA}	6,02 ± 0,05 ^{aB}	6,18 ± 0,05 ^{bC}	6,22 ± 0,07 ^{abC}
P2	5,97 ± 0,08 ^{bA}	6,02 ± 0,03 ^{aA}	6,21 ± 0,05 ^{bB}	6,24 ± 0,06 ^{abB}
P3	5,79 ± 0,09 ^{aA}	6,04 ± 0,04 ^{aB}	6,20 ± 0,08 ^{bC}	6,29 ± 0,07 ^{bC}
Conținutul total de compuși fenolici (mg GAE/100 g)				
C0	7,17 ± 0,32 ^{aC}	7,02 ± 0,40 ^{aBC}	6,47 ± 0,33 ^{bB}	4,18 ± 0,18 ^{aA}
C1	6,90 ± 0,21 ^{aC}	6,70 ± 0,35 ^{aC}	5,20 ± 0,29 ^{aB}	3,95 ± 0,25 ^{aA}
P1	9,72 ± 0,38 ^{bC}	9,42 ± 0,26 ^{cBC}	8,85 ± 0,36 ^{cB}	7,48 ± 0,44 ^{cA}
P2	9,98 ± 0,56 ^{bC}	8,08 ± 0,66 ^{bB}	6,22 ± 0,69 ^{bA}	5,62 ± 0,57 ^{bA}
P3	15,62 ± 0,49 ^{cC}	14,87 ± 0,82 ^{dBC}	14,15 ± 0,56 ^{dB}	10,53 ± 0,61 ^{dA}
Activitatea antioxidantă ABTS (mmol Trolox/100 g)				
C0	0,55 ± 0,03 ^{aB}	0,52 ± 0,02 ^{aB}	0,47 ± 0,02 ^{aA}	0,45 ± 0,02 ^{aA}
C1	0,61 ± 0,03 ^{bC}	0,56 ± 0,03 ^{aB}	0,49 ± 0,02 ^{aA}	0,47 ± 0,02 ^{aA}
P1	0,66 ± 0,02 ^{bB}	0,63 ± 0,03 ^{bAB}	0,63 ± 0,02 ^{bAB}	0,60 ± 0,02 ^{bA}
P2	0,77 ± 0,03 ^{cB}	0,76 ± 0,02 ^{cAB}	0,73 ± 0,03 ^{cAB}	0,71 ± 0,03 ^{cA}
P3	0,85 ± 0,03 ^{dB}	0,84 ± 0,03 ^{dB}	0,74 ± 0,03 ^{cA}	0,73 ± 0,03 ^{cA}

* Literele mici diferite indică o diferență semnificativă ($p < 0,05$) între diferitele tratamente, în timp ce literele majuscule diferite indică o diferență semnificativă ($p < 0,05$) în cadrul fiecărui tratament între diferite perioade de depozitare.

După 15 zile de depozitare, activitatea antioxidantă a fost semnificativ mai mare în probele cu adaos de extracte bogate în compuși fenolici și pulbere din frunze de nuc în raport cu probele martor, în timp ce nu s-a constatat o diferență semnificativă între probele martor fără antioxidant și cele cu BHT.

Pe de altă parte, depozitarea a afectat, de asemenea, concentrația MDA, iar valorile TBARS au crescut treptat cu creșterea timpului de păstrare în toate probele, variind de la 1,09 până la 3,21 mg MDA/kg după 15 zile la 4°C. Cu toate acestea, în timpul tuturor intervalelor de depozitare valorile TBARS au fost mai mari ($P < 0,05$) în probele martor fără antioxidant față de cele care conțin extracte de frunze de nuc și cozi de cireșe. Pe parcursul perioadei de depozitare de 15 zile, a fost obținută o reducere de 49% și 41% în chiftelele din carne de porc coapte cu extract din frunze de nuc și cozi de cireșe, prin urmare, adăugarea acestor extracte a avut efecte semnificative de reducere a oxidării lipidelor în probele de carne de porc tocată.

Extractele din frunze de nuc au fost mai eficiente împotriva oxidării lipidelor decât cele din cozi de cireșe, ceea ce este în concordanță cu rezultatele analizelor *in vitro*. Extractul de frunze de nuc a prezentat un conținut mai mare de flavonoide decât extractul de cozi de cireșe, ceea ce este direct corelat cu capacitatea antioxidantă mai mare (3,67 versus 2,84 mmol/100g Trolox pentru extract din frunze de nuc și respectiv cozi de cireșe) (tabelul 5.1) și, în consecință, cu efectul antioxidant mai intens al primului extract.

Datele de la evaluarea senzorială a chiftelelor din carne de porc coapte sunt prezentate în tabelul 7.4. După coacere (ziua 0), nu au existat diferențe semnificative în aspectul general, aroma și acceptabilitatea generală a probelor martor și tratate, cu excepția chiftelelor tratate cu pulbere din frunze de nuc ale căror punctaje au fost semnificativ mai mari.

Tabelul 7.4. Evaluarea senzorială a chiftelelor din carne de porc în timpul depozitării în condiții de refrigerare timp de 15 zile

	Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
		0	5	10	15
Aspect	C0	7,25 ± 0,62 ^a	7,08 ± 0,51 ^a	6,75 ± 0,45 ^a	6,25 ± 0,45 ^a
	C1	7,42 ± 0,51 ^a	7,33 ± 0,49 ^{ab}	7,08 ± 0,51 ^{ab}	6,75 ± 0,62 ^b
	P1	7,67 ± 0,49 ^a	7,58 ± 0,51 ^b	7,50 ± 0,52 ^c	7,08 ± 0,29 ^b
	P2	7,50 ± 0,52 ^a	7,42 ± 0,51 ^{ab}	7,33 ± 0,49 ^{bc}	6,92 ± 0,29 ^b
	P3	8,33 ± 0,49 ^b	8,33 ± 0,49 ^c	8,17 ± 0,39 ^d	7,83 ± 0,39 ^c
Culoare	C0	6,67 ± 0,75 ^a	6,58 ± 0,51 ^a	6,42 ± 0,51 ^a	6,25 ± 0,45 ^a
	C1	7,08 ± 0,79 ^{ab}	7,08 ± 0,79 ^{ab}	6,92 ± 0,67 ^b	6,75 ± 0,45 ^b
	P1	7,33 ± 0,98 ^{bc}	7,25 ± 0,87 ^{bc}	7,17 ± 0,83 ^b	7,00 ± 0,74 ^b
	P2	7,25 ± 0,45 ^b	7,08 ± 0,51 ^{ab}	6,83 ± 0,39 ^{ab}	6,92 ± 0,29 ^b
	P3	7,83 ± 0,39 ^c	7,75 ± 0,45 ^c	7,67 ± 0,49 ^c	7,75 ± 0,45 ^c
Gust	C0	7,67 ± 0,65 ^a	7,33 ± 0,49 ^a	7,17 ± 0,58 ^a	6,42 ± 0,51 ^a
	C1	7,75 ± 0,62 ^a	7,42 ± 0,51 ^a	7,33 ± 0,49 ^{ab}	6,67 ± 0,49 ^{ab}
	P1	7,67 ± 0,65 ^a	7,58 ± 0,67 ^a	7,42 ± 0,51 ^{ab}	7,08 ± 0,79 ^b
	P2	7,58 ± 0,51 ^a	7,42 ± 0,51 ^a	7,25 ± 0,62 ^a	7,00 ± 0,60 ^b
	P3	8,33 ± 0,49 ^b	8,17 ± 0,39 ^b	7,75 ± 0,45 ^b	7,58 ± 0,51 ^c
Acceptabilitate generală	C0	7,42 ± 0,51 ^a	7,08 ± 0,29 ^a	6,92 ± 0,67 ^a	6,00 ± 0,60 ^a
	C1	7,50 ± 0,52 ^a	7,17 ± 0,58 ^a	7,08 ± 0,51 ^{ab}	6,25 ± 0,75 ^{ab}
	P1	7,42 ± 0,51 ^a	7,33 ± 0,49 ^a	7,17 ± 0,58 ^{ab}	6,67 ± 0,65 ^b
	P2	7,33 ± 0,49 ^a	7,17 ± 0,39 ^a	7,00 ± 0,43 ^a	6,58 ± 0,51 ^b
	P3	8,08 ± 0,29 ^b	7,92 ± 0,51 ^b	7,50 ± 0,52 ^b	7,25 ± 0,45 ^c

* mediile cu superscript diferit într-o coloană sunt semnificativ diferite (P <0,05)

După 15 zile de depozitare frigorifică, chiftelele de porc cu extracte de frunze de nuc și de cozi de cireșe au fost acceptabile din punct de vedere senzorial, iar adăugarea de extracte a avut efecte pozitive asupra atributelor senzoriale. Prin urmare, aceste extracte au potențialul de a reduce gradul de râncezire oxidativă și de a îmbunătăți acceptabilitatea și termenul de valabilitate al chiftelelor din carne de porc coapte. La sfârșitul perioadei de depozitare, punctajele pentru probele tratate cu pulbere din frunze de nuc au fost semnificativ mai mari decât cele ale probelor martor și ale celorlalte tratamente. Nu s-au constatat diferențe semnificative între punctajele probelor tratate cu extracte bogate în compuși fenolici și probele

tratate cu BHT, în timp ce punctajele pentru probele martor fără antioxidant au fost semnificativ mai mici, în special în ceea ce privește culoarea.

7.4. Concluzii parțiale

Din rezultatele obținute se poate concluziona că pulberea din frunze de nuc și extractele de frunze de nuc și cozi de cireșe prezintă un conținut ridicat de compuși fenolici și o activitate antioxidantă ridicată. Adăugarea acestor produse naturale bogate în compuși fenolici antioxidanți în chiftelele din carne de porc s-a dovedit a fi mai eficace decât un adaos de 0,1% BHT privind încetinirea oxidării lipidelor și a deteriorării culorii în timpul depozitării în stare refrigerată. Cele mai scăzute valori ale oxidării lipidelor au fost găsite în chiftelele din carne de porc cu adaos de pulbere din frunze de nuc, care au prezentat un efect antioxidant puternic. Extractul de frunze de nuc a fost mai eficient împotriva oxidării lipidelor decât extractul de cozi de cireșe, fapt care este în concordanță cu rezultatele testărilor *in vitro*. Adăugarea de extracte de frunze de nuc și cozi de cireșe nu a afectat aspectul, aroma și acceptabilitatea generală a chiftelelor din carne de porc coapte la un nivel de adaos de 5,5% testat în acest studiu, în timp ce adaosul de pulbere din frunze de nuc la nivel de 0,5% a avut efecte pozitive semnificative asupra atributelor senzoriale. Frunzele de nuc și cozile de cireșe, ca materiale vegetale naturale cu conținut ridicat de compuși fenolici, pot fi surse promițătoare de antioxidanți naturali pentru utilizare în produsele din carne.

CAPITOLUL 8

ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A PULBERII DIN FRUNZE DE NUC ȘI A EXTRACTELOR DE FRUNZE DE NUC ȘI COZI DE CIREȘE ÎN CHIFTELE GĂTITE DIN CARNE DE PORC

8.1. Oportunitatea studiului

În ciuda proprietăților lor farmaceutice bine cunoscute și a activității antioxidante remarcabile a frunzelor de nuc și codițelor de cireșe, nu există informații cu privire la efectele inhibitorii ale acestor produse vegetale asupra creșterii microbiene în produsele din carne. Prin urmare, obiectivele acestor studii au fost acelea de a investiga potențialul utilizării pulberii din frunze de nuc și a extractelor din frunze de nuc și din codițe de cireșe ca antimicrobiene naturale în sistemele de carne gătită.

8.2. Materiale și metode de analiză

Pentru analiza microbiologică s-a cântărit steril 1 g probă care s-a omogenizat cu 9 ml ser fiziologic peptonat într-un stomacher. După omogenizare, probele au fost menținute 15 min la temperatura camerei. Însămânțarea s-a făcut direct din proba obținută fără efectuarea diluțiilor zecimale. S-a urmărit determinarea calitativă a germenilor fără cuantificarea acestora. Mediile de cultură utilizate au fost XLD agar selectiv pentru *Enterobacteriaceae* precum și agar nutritiv ca mediu uzual. Însămânțarea s-a făcut în ambele cazuri prin striere la suprafața mediului. Incubarea plăcilor însămânțate s-a făcut la 37°C pentru *Enterobacteriaceae*, timp de 48 ore, iar cele cu agar nutritiv s-au incubat la 30°C timp de 48 ore.

Activitatea antimicrobiană a extractelor apoase adăugate în chiftele a fost testată pe bacteriile cel mai frecvent întâlnite în probele analizate. Metoda de lucru a fost cea a discurilor impregnate în extract. Astfel, pe suprafața mediului de cultură agar nutritiv s-a făcut însămânțarea prin inundarea mediului cu o suspensie de bacterii din genul *Bacillus* izolate din probele de chiftele analizate. Concentrația suspensiei a fost de 2 unități nefelometrice stabilită cu ajutorul nefelometrului. S-au folosit plăci cu diametrul de 90 mm, inoculum fiind de 1 ml suspensie bacteriană. După 15 min s-a îndepărtat excesul de suspensie și s-au aplicat pe suprafața mediului însămânțat 3 discuri sterilizate, cu diametrul de 6 mm, impregnate cu extract apos din frunze de nuc, extract apos din codițe de cireșe și respectiv apă distilată (martor). Așezarea discurilor pe placă a fost echidistantă. Plăcile astfel obținute s-au termostatat la 37°C timp de 48 ore. Citirea plăcilor s-a făcut prin notări asupra zonei de inhibiție din jurul discului impregnat, precum și măsurarea în trei direcții a zonei de inhibare (în cazul probelor pozitive). Analiza a fost realizată în duplicat.

Analiza microbiologică a probelor de chiftele cu adaos de extracte vegetale și a probei martor s-a făcut în două etape: imediat după obținere și după 15 zile de păstrare în condiții de refrigerare.

8.3. Rezultate și discuții

Analiza microbiologică a chiftelelor imediat după obținere

Pe mediul selectiv XLD pentru *Enterobacteriaceae* nu s-au dezvoltat colonii în intervalul de termostatare, astfel încât putem spune ca probele sunt lipsite de bacteriile patogene din aceasta familie. În schimb, pe agar nutritiv s-au dezvoltat foarte multe colonii, cu grade diferite de uniformitate de la o probă la alta.

În proba martor (Moi), după numai 24 de ore de termostatare, pe mediul agar nutritiv, au fost observate colonii cu tendință de extindere, margine rizoidală, culoare alb gri, consistență ușor gelatinoasă. Gradul de uniformitate al coloniilor a fost foarte mare, consemnând că este vorba de o singură specie de bacterii care s-a dezvoltat pe acest mediu uzual.

La microscop, în frotiuri colorate Gram, au fost evidențiați bacilli G(+) sporulați, cu sporul așezat terminal, care depășește ușor diametrul celulei vegetative (foto 6.2). Pe baza testelor culturale, morfologice și biochimice, izolatul colonial a fost încadrat în specia *Bacillus cereus* var. *mycoides*.

În cazul probei P1i s-a constatat cea mai mică încărcătură de microorganisme. Pe mediul agar nutritiv s-au dezvoltat două tipuri de colonii (foto 6.3), unele de culoare albă, cu margine întreagă, suprafață lucioasă, consistență cremoasă.

La microscop au fost evidențiați bacilli G (+) de dimensiuni reduse, nesporulați, ce aparțin bacteriilor lactice (*Lactobacillus*) prezente în mod natural în microflora cărnii.

La microscop au fost evidențiați coci G(+) așezați caracteristic sub formă de ciorchine, tipici genului *Staphylococcus*.

La proba P2i s-a constatat o creștere colonială abundentă cu grad mare de uniformitate a coloniilor. Coloniile dezvoltate au fost cremoase, alb-crem, cu suprafața ușor crețată, margini ondulate. La microscop au fost observați bacilli G(+) cu capete rotunjite, dimensiuni mari, unite caracteristic în lanțuri, sporulate. Pe baza testelor morfologice, culturale și biochimice, izolatul colonial a fost încadrat în specia *Bacillus cereus*.

O creștere colonială mai puțin intensă a prezentat proba P3i. În acest caz s-au dezvoltat două tipuri de colonii. Predominante au fost coloniile translucide cu tendință de extindere, de culoare alb-gri, dezvoltate pe traseul de însămânțare. Acestea au fost generate de bacilli G(+) de dimensiuni reduse, nesporulați, tipici genului *Brochothrix thermosphacta* care face parte din microflora autohtonă a cărnii. Un număr redus de colonii au prezentat dimensiuni mici, au fost opace, colorate alb-crem. La microscop au fost observați bacili G(+), de dimensiuni reduse, cu capetele rotunjite, sporulați. Acest mod de grupare, corelat cu caracterul Gram, aspectele culturale și testele biochimice, poate încadra izolatul colonial în genul *Bacillus* spp.

Analiza microbiologică a chiftelelor după păstrare timp de 15 zile în stare refrigerată

După păstrarea timp de 15 zile a chiftelelor în condiții de refrigerare, se constată o mare uniformitate între probe, în sensul că la toate cele trei probe și la martor s-au dezvoltat abundent colonii pe tot traseul de însămânțare.

La microscop au fost observați bacilli G(+) sporulați, tipici genului *Bacillus*. De remarcat faptul că în cazul probei cu adaos de extract din frunze de nuc, deși nu au fost izolați germeni ce aparțin genului *Bacillus*, au fost prezenți spori care au germinat în condiții de refrigerare, celulele vegetative rezultate multiplicându-se abundent.

În ceea ce privește sensibilitatea bacteriilor din genul *Bacillus* la acțiunea extractelor apoase de frunze de nuc și cozi de cireșe, s-a constatat că acestea nu inhibă bacteriile studiate, unele dintre acestea crescând chiar pe discul impregnat. În schimb s-a constatat o dezvoltare mai slabă a coloniilor.

8.4. Concluzii parțiale

Adăugarea în preparatele de carne tratate termic de tip chiftele a extractelor apoase de frunze de nuc și cozi de cireșe sau a pudrei din frunze de nuc nu a avut efect bacteriostatic asupra microflorei autohtone. Astfel, în proba martor s-au dezvoltat abundent germeni din genul *Bacillus*, în timp ce în proba cu adaos de extract din frunze de nuc acestea au fost inhibate de extractul adăugat, în schimb s-au dezvoltat bacterii lactice prezente în microflora autohtonă și foarte slab s-a dezvoltat *Staphylococcus*, germen indicator al stării sanitare.

În cazul probei cu adaos de extract din cozi de cireșe s-a constatat o proliferare a germenilor din genul *Bacillus*, în timp ce în cazul probei cu adaos de pulbere din frunze de nuc s-au dezvoltat germeni prezenți în microflora autohtonă precum *Brochothrix thermosphacta*, dar și *Bacillus* spp.

Extractele vegetale adăugate în chiftele nu au avut efect asupra bacteriilor din genul *Bacillus*, care au inhibat restul microflorei autohtone devenind dominante asupra acesteia, astfel că, la toate probele analizate după 15 zile de păstrare în condiții de refrigerare, acesta s-a dezvoltat abundent în toate probele analizate.

CAPITOLUL 9

EFICACITATEA FRUNZELOR DE NUC ȘI A CODIȚELOR DE CIREȘE CA ANTIOXIDANȚI NATURALI ÎN CARNE DE PORC CRUDĂ ÎN TIMPUL DEPOZITĂRII ÎN STARE CONGELATĂ

9.1. Oportunitatea studiului

În timpul procesării și depozitării cărnii, oxidarea lipidelor determină schimbări de culoare, aromă, valoare nutritivă și siguranță alimentară. Obiectivul acestui studiu a fost acela de a investiga potențialul de utilizare al infuziilor din frunze de nuc și din codițe de cireșe pentru a spori stabilitatea oxidativă în timpul depozitării prin congelare a chiftelelor din carne de porc crudă. Culoarea, pH-ul și activitatea antioxidantă a chiftelelor din carne de porc crudă congelate au fost de asemenea evaluate timp de nouă luni de depozitare la $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Butilhidroxitoluenul (BHT) a fost utilizat ca antioxidant martor pozitiv în acest studiu.

9.2. Materiale și metode de analiză

Carnea slabă de porc proaspătă și grăsimea de pe spate au fost tăiate în cuburi, tocate printr-o sită cu orificii de 3 mm și amestecate pentru a conține 21% grăsime de pe spate. Amestecul a fost împărțit în patru tratamente, după cum urmează: I) C0 - Martor (pastă de carne + 1,5% sare + 5,5% apă); II) C1 - Martor cu BHT (pastă de carne + 1,5% sare + 5,5% apă + 0,1% BHT); III) EFN (pastă de carne + 1,5% sare + 5,5% extract din frunze de nuc); IV) ECC (pastă de carne + 1,5% sare + 5,5% extract din cozi de cireșe). Sarea și BHT au fost dizolvate în apă sau în extracte înainte de amestecare cu pasta de carne. Imediat după adăugarea tuturor ingredientelor, probele de carne au fost amestecate bine și modelate în chiftele manual (câte 50 g fiecare). Chiftelele au fost ambalate aerob în pungi de polietilenă și analizate în 24 de ore și după 3, 6 și 9 luni de depozitare la $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pentru analiză, probele au fost decongelate timp de 12 ore la $6 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9.3. Rezultate și discuții

Imediat după prepararea chiftelelor au fost determinate diferențe semnificative de pH între tratamente ($P < 0,05$). Chiftelele crude cu adaos de BHT și cele cu extract din frunze de nuc au avut o valoare mai scăzută a pH-ului comparativ cu chiftelele martor. Pe parcursul a nouă luni de depozitare în stare congelată, valorile pH-ului la carnea de porc crudă au crescut semnificativ ($P < 0,05$) în toate probele, probabil ca urmare a expunerii grupărilor bazice prin denaturarea proteinelor. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative ($P < 0,05$) între tratamente privind valorile pH-ului la carnea de porc crudă după nouă luni de depozitare în stare congelată.

Prođușii de oxidare ai lipidelor au fost evaluați cu ajutorul valorilor TBARS exprimate în mg malonaldehidă per kilogram de probă de carne (tabelul 9.1). Imediat după preparare, gradul de oxidare al lipidelor în chiftelele crude a fost relativ scăzut în toate probele, totuși valorile TBARS ale chiftelelor crude din carne de porc tratate cu extracte din frunze de nuc (EFN) și extracte din cozi de cireșe (ECC) au fost semnificativ mai scăzute ($P < 0,05$) decât cele ale martorului fără antioxidanți (C0) și ale probelor cu adaos de BHT (C1).

O creștere considerabilă a valorilor TBARS a fost observată la toate tratamentele în perioada de depozitare în stare congelată (-18 °C). Cu toate acestea, pe parcursul întregii perioade de depozitare, valorile TBARS au fost semnificativ ($P < 0,05$) mai scăzute în chiftelele cu adaos de extracte naturale decât în probele martor, ceea ce sugerează că extractele din frunze de nuc și din codițe de cireșe au fost eficiente în protejarea chiftelelor din carne crudă de oxidarea lipidelor. După nouă luni de depozitare în stare congelată, nivelul MDA în chiftelele martor a crescut până la 2,17 mg MDA/kg, în timp ce în probele tratate cu extracte din frunze de nuc și codițe de cireșe au fost de doar 0,72 și respectiv 1,01 mg MDA/kg (Tabelul 9.1).

Tabelul 9.1. Valorile TBARS, pH-ul, conținutul total de compuși fenolici și activitatea antioxidantă ABTS a chiftelelor crude din carne de porc în timpul depozitării în stare congelată timp de 9 luni

Tratament	Perioada de depozitare (luni)			
	0	3	6	9
Valorile TBARS (mg MDA/kg)				
C0	0.74 ± 0.03 ^{CA}	0.94 ± 0.03 ^{dB}	1.24 ± 0.05 ^{dC}	2.17 ± 0.12 ^{dD}
C1	0.28 ± 0.02 ^{BA}	0.45 ± 0.03 ^{CB}	0.75 ± 0.04 ^{CC}	1.22 ± 0.07 ^{CD}
EFN	0.12 ± 0.02 ^{AA}	0.25 ± 0.02 ^{AB}	0.43 ± 0.02 ^{AC}	0.72 ± 0.04 ^{AD}
ECC	0.16 ± 0.02 ^{AA}	0.32 ± 0.02 ^{BB}	0.53 ± 0.03 ^{BC}	1.01 ± 0.04 ^{BD}
pH				
C0	5.83 ± 0.04 ^{CA}	6.04 ± 0.05 ^{BB}	6.16 ± 0.04 ^{CC}	6.28 ± 0.05 ^{AD}
C1	5.70 ± 0.03 ^{abA}	6.02 ± 0.02 ^{BB}	6.10 ± 0.05 ^{CC}	6.24 ± 0.05 ^{AD}
EFN	5.68 ± 0.05 ^{AA}	6.01 ± 0.03 ^{BB}	6.11 ± 0.03 ^{CC}	6.24 ± 0.04 ^{AD}
ECC	5.77 ± 0.04 ^{bcA}	5.92 ± 0.04 ^{AB}	6.11 ± 0.04 ^{CC}	6.20 ± 0.04 ^{AD}
Conținut total de compuși fenolici (mg GAE/100 g)				
C0	8.80 ± 0.30 ^{AA}	8.48 ± 0.40 ^{AA}	8.34 ± 0.30 ^{AA}	8.40 ± 0.50 ^{AA}
C1	8.65 ± 0.40 ^{AA}	8.56 ± 0.30 ^{AA}	8.49 ± 0.40 ^{AA}	8.36 ± 0.40 ^{AA}
EFN	17.03 ± 0.60 ^{CD}	15.92 ± 0.60 ^{CC}	14.02 ± 0.50 ^{CB}	12.55 ± 0.50 ^{CA}
ECC	12.97 ± 0.50 ^{BD}	12.08 ± 0.50 ^{BC}	10.58 ± 0.40 ^{BB}	8.98 ± 0.30 ^{BA}
Activitatea antioxidantă ABTS (mmol Trolox/100 g)				
C0	0.47 ± 0.02 ^{AD}	0.41 ± 0.01 ^{AC}	0.33 ± 0.02 ^{AB}	0.26 ± 0.01 ^{AA}
C1	0.60 ± 0.02 ^{BD}	0.53 ± 0.02 ^{BC}	0.47 ± 0.02 ^{BB}	0.38 ± 0.02 ^{BA}
EFN	0.76 ± 0.03 ^{DD}	0.70 ± 0.03 ^{DC}	0.60 ± 0.02 ^{CB}	0.52 ± 0.02 ^{DA}
ECC	0.71 ± 0.02 ^{CD}	0.64 ± 0.02 ^{CC}	0.56 ± 0.03 ^{CB}	0.45 ± 0.02 ^{CA}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicare. Litere mici diferite indică o diferență semnificativă între tratamente ($p < 0,05$), în timp ce litere majuscule diferite indică diferențe semnificative în cadrul fiecărui tratament între diferite perioade de depozitare.

Extractul din frunze de nuc a mărit semnificativ ($P < 0,05$) conținutul de compuși fenolici din chiftelele din carne de porc crude, urmat de extractul din codițe de cireșe. Modificările conținutului de compuși fenolici în timpul depozitării (Tabelul 9.1) au indicat o scădere semnificativă ($P < 0,05$) a acestora până la a 9-a lună de depozitare în stare congelată în chiftelele cu extracte bogate în polifenoli. La sfârșitul perioadei de păstrare, chiftelele cu extract din frunze de nuc au avut cel mai mare conținut de compuși fenolici (12,55 mg GAE/100 g).

Conform analizei ABTS, adaosul de extracte din plante a determinat o creștere semnificativă ($P < 0,05$) a activității antioxidante comparativ cu probele martor și cu adaos de BHT (Tabelul 9.1). Activitatea de captare a radicalilor liberi a scăzut semnificativ pe parcursul

perioadei de depozitare de 9 luni. Activitatea antioxidantă a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare pentru tratamentul cu extract din frunze de nuc față de tratamentul cu extract din cozi de cireșe, atât la începutul, cât și la sfârșitul perioadei de depozitare.

Evoluția parametrilor de culoare L^* , a^* și b^* este prezentată în Tabelul 9.2. Luminozitatea (valoarea L^*) a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare la martor și martor cu adaos de BHT în comparație cu probele cu adaos de extracte de plante (EFN și ECC). Valorile a^* ale chiftelelor tratate cu extracte din frunze de nuc au fost mai mari decât cele ale martorului în ziua 0 (imediat după prepararea chiftelelor), dar nu s-au constatat diferențe semnificative ($P < 0,05$) între acestea la sfârșitul perioadei de depozitare.

Toate tipurile de chiftele au suferit o scădere semnificativă a valorilor a^* în timpul depozitării prin congelare, ceea ce indică modificarea culorii de la roșu la brun, care ar putea fi datorată formării metmioglobinei ca urmare a oxidării pigmentului mioglobină [5].

Tabelul 9.2. Parametrii de culoare al chiftelelor de porc crude în timpul depozitării timp de 9 luni în stare congelată*

Parametrii de culoare	Tratament	Perioada de depozitare (luni)			
		0	3	6	9
L^*	C0	74.16 ± 0.31 ^{cd}	70.65 ± 0.32 ^{cc}	67.14 ± 0.71 ^{bb}	65.38 ± 0.93 ^{ba}
	C1	72.60 ± 0.91 ^{bc}	70.43 ± 0.45 ^{cb}	68.27 ± 1.07 ^{ba}	67.19 ± 1.49 ^{ba}
	EFN	68.03 ± 0.86 ^{ac}	65.92 ± 0.83 ^{abc}	63.81 ± 1.89 ^{ab}	62.76 ± 2.48 ^{aa}
	ECC	68.47 ± 0.85 ^{aa}	68.17 ± 0.58 ^{ba}	67.88 ± 0.55 ^{ba}	67.73 ± 0.64 ^{ba}
a^*	C0	10.72 ± 0.57 ^{ad}	8.51 ± 0.47 ^{abc}	6.30 ± 0.42 ^{ab}	5.19 ± 0.41 ^{aa}
	C1	11.65 ± 0.47 ^{bd}	9.55 ± 0.49 ^{cc}	7.45 ± 0.63 ^{bb}	6.40 ± 0.72 ^{ba}
	EFN	11.86 ± 0.48 ^{bc}	9.34 ± 0.90 ^{bc}	6.83 ± 1.42 ^{ab}	5.58 ± 1.70 ^{aa}
	ECC	10.08 ± 0.79 ^{ad}	7.87 ± 0.36 ^{ac}	5.65 ± 0.33 ^{ab}	5.54 ± 0.53 ^{aa}
b^*	C0	15.19 ± 0.89 ^{ac}	13.59 ± 0.72 ^{ab}	11.99 ± 1.39 ^{aa}	11.19 ± 0.69 ^{aa}
	C1	14.51 ± 0.75 ^{aa}	13.95 ± 0.82 ^{aa}	13.40 ± 1.09 ^{aa}	13.12 ± 1.26 ^{aa}
	EFN	15.09 ± 0.62 ^{ab}	13.89 ± 1.34 ^{ab}	12.69 ± 2.09 ^{ab}	12.09 ± 2.46 ^{aa}
	ECC	17.94 ± 1.22 ^{bc}	16.93 ± 0.53 ^{bc}	15.91 ± 0.22 ^{bab}	15.41 ± 0.54 ^{ba}
C	C0	18.59 ± 1.04 ^{ac}	16.03 ± 0.81 ^{ab}	13.55 ± 1.30 ^{aa}	12.34 ± 0.71 ^{aa}
	C1	18.61 ± 0.86 ^{ac}	16.91 ± 0.95 ^{abc}	15.33 ± 1.24 ^{ab}	14.60 ± 1.43 ^{ab}
	EFN	19.19 ± 0.76 ^{abc}	16.74 ± 1.61 ^{abc}	14.42 ± 2.51 ^{ab}	13.33 ± 2.93 ^{aa}
	ECC	20.58 ± 1.35 ^{bc}	18.67 ± 0.58 ^{bb}	16.89 ± 0.32 ^{ba}	16.06 ± 0.66 ^{ba}
h	C0	54.78 ± 0.64 ^{ba}	57.95 ± 1.02 ^{bb}	62.13 ± 1.52 ^{ac}	65.09 ± 1.72 ^{ad}
	C1	51.24 ± 0.68 ^{aa}	55.60 ± 0.28 ^{ab}	60.92 ± 0.62 ^{ac}	64.01 ± 1.01 ^{ad}
	EFN	51.84 ± 0.58 ^{aa}	56.07 ± 0.43 ^{ab}	61.87 ± 1.32 ^{ac}	65.71 ± 2.85 ^{ad}
	ECC	60.68 ± 1.49 ^{ca}	65.08 ± 0.89 ^{cb}	70.47 ± 0.80 ^{bc}	73.61 ± 1.31 ^{bd}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicare. Litere mici diferite indică diferențe semnificative datorate tratamentului ($p < 0,05$), în timp ce litere majuscule diferite indică diferențe semnificative ($p < 0,05$) datorate perioadei de păstrare ($P < 0,05$).

Extractele din frunze de nuc și cele din cozi de cireșe au redus scăderea parametrului a^* în timpul depozitării în stare congelată a chiftelelor din carne de porc. Chiftelele cu adaos de extract din codițe de cireșe au prezentat valori ale parametrului b^* semnificativ mai mari ($P < 0,05$) decât cele ale martorului, în timp ce nu s-au constatat diferențe semnificative între celelalte tratamente. Valorile medii ale nuanței culorii (hue) au fost semnificativ ($P < 0,05$) mai

mari la probele cu extract de cozi de cireșe, urmate de martor și cele mai scăzute în probele tratate cu BHT și extracte din frunze de nuc, între care nu au existat diferențe semnificative ($P < 0,05$). Valorile nuanței culorii (hue) au crescut în timpul depozitării la toate tratamentele. Valorile intensității culorii (chroma) au fost semnificativ mai mari la probele cu extract de cozi de cireșe decât la alte tratamente. Valorile intensității culorii au fost semnificativ diferite între tratamentele BHT, EFN și martor. Chroma a prezentat o tendință de scădere cu mărirea duratei de depozitare în stare congelată la toate tratamentele.

9.3. Concluzii parțiale

Rezultatele studiului indică utilizarea potențială a extractelor din frunze de nuc și din codițe de cireșe ca inhibitori eficienți ai oxidării lipidelor și deteriorării culorii în timpul depozitării în stare congelată a cărnii de porc crude, tocate și sărate. Adaosul extractelor din frunze de nuc și din codițe de cireșe în chiftelele din carne de porc a limitat reacțiile oxidative mai mult decât BHT, un antioxidant sintetic. Aceste efecte ar putea fi atribuite prezenței compușilor fenolici antioxidanți în extracte, care acționează ca agenți de captare a radicalilor liberi și întârzie formarea metmioglobinei în chiftele.

Conform rezultatelor obținute, extractul din frunze de nuc a fost mai eficient decât cel din codițe de cireșe în prevenirea oxidării lipidelor și inhibarea brunificării și decolorării chiftelelor de porc congelate. Utilizarea acestor extracte ca antioxidanți naturali ar putea constitui o strategie eficientă de prelungire a termenului de valabilitate a produselor din carne congelate.

CAPITOLUL 10

EFECTUL ACOPERIRII CU FILME PE BAZĂ DE CHITOSAN ÎMBOGĂȚIT CU EXTRACTE DIN FRUNZE DE NUC ȘI CODIȚE DE CIREȘE ASUPRA CALITĂȚII CHIFTELELOR DE PORC PRECOAPTE

10.1. Oportunitatea studiului

Acest studiu a fost realizat cu scopul de a evalua eficacitatea acoperirilor comestibile pe bază de chitosan conținând extracte de frunze de nuc și extracte de codițe de cireșe împotriva pierderii de umiditate și oxidării lipidelor în chiftele de porc precoapte, în timpul depozitării în stare frigorifică.

10.2. Materiale și metode de analiză

Chiftelele din carne de porc au fost realizate conform rețetei: 73,5% carne de porc macră, 20% grăsime de pe spate, 5% gheață și 1,5% sare. Carnea și grăsimea au fost tocate printr-o sită de 3 mm, apoi s-au adăugat gheața și sarea. Amestecul a fost omogenizat manual timp de 10 minute și format (manual) în chiftele de 50 g. Probele au fost gătitе într-un cuptor electric până când temperatura internă a atins 75 ± 1 °C. După răcire, chiftelele au fost împărțite în patru grupe: neacoperite (C); acoperite cu chitosan (CH); acoperite cu chitosan cu extract de frunze de nuc (CWL) și acoperite cu chitosan cu extract de codițe de cireșe (CCS).

Soluția de chitosan a fost preparată prin dizolvarea a 3 g chitosan în 100 ml soluție apoasă de acid acetic 1% cu 1 g glicerină. Amestecul a fost încălzit până la fierbere (aproximativ 100 °C) pe un agitator magnetic / placă fierbinte până când soluția a devenit limpede, apoi introdus într-o baie cu ultrasunete timp de 60 min pentru a elimina bulele și în final a fost menținut la temperatura camerei până la utilizarea pentru acoperire. Acoperirile comestibile active au fost realizate în același mod ca mai sus, dar utilizând infuzie de codițe de cireșe și, respectiv, infuzie de frunze de nuc ca solvent al soluției de acid acetic 1%.

Chiftelele au fost înmuiate individual în soluție de acoperire timp de 10 s la temperatura camerei și lăsate să se scurgă (pentru a îndepărta excesul) timp de 10 s. Această procedură de scufundare s-a repetat de trei ori și apoi chiftelele s-au uscat timp de 2 ore într-o hotă cu flux laminar. Chiftelele, cu sau fără acoperire, au fost ambalate individual în pungi de polietilenă și depozitate la 2 °C. La chiftelele de porc s-a determinat scăderea relativă de greutate, pH-ul, culoarea, oxidarea lipidelor și activitatea antioxidantă. Determinările s-au realizat la sfârșitul procesului de aplicare a acoperirii și după 5, 10 și 15 zile de depozitare în stare refrigerată. Oxidarea lipidică a fost evaluată prin măsurarea substanțelor reactive la acid tiobarbituric (TBARS), în timp ce activitatea antioxidantă a fost măsurată prin metoda ABTS.

10.3. Rezultate și discuții

Pierderea în greutate a crescut semnificativ ($P < 0,05$) pentru toate probele în timpul perioadei de depozitare de 15 zile (tabelul 10.1). Acoperirea comestibilă a scăzut semnificativ pierderea relativă de greutate în carnea de porc în timpul depozitării în stare refrigerată. Acoperirea cu chitosan a determinat o reducere a pierderii relative în greutate cu 44,9%, 29,3% și 20,5% față de proba martor, după 5, 10 și respectiv 15 zile de depozitare frigorifică.

Îmbogățirea acoperirii de chitosan cu extracte din plante nu a afectat semnificativ pierderile relative de umiditate ale probelor de carne.

Tabelul 10.1. Pierderea relativă de greutate a chiftelelor din carne de porc în timpul depozitării în condiții de refrigerare timp de 15 zile

Tratament	Perioada de depozitare (zile)		
	5	10	15
C	1.67 ± 0.28 ^{bA}	3.44 ± 0.25 ^{bB}	4.63 ± 0.22 ^{bC}
CH	0.92 ± 0.10 ^{aA}	2.43 ± 0.18 ^{aB}	3.68 ± 0.32 ^{aC}
CWL	0.98 ± 0.13 ^{aA}	2.51 ± 0.26 ^{aB}	3.80 ± 0.22 ^{aC}
CCS	1.11 ± 0.14 ^{aA}	2.63 ± 0.19 ^{aB}	3.92 ± 0.24 ^{aC}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicat. Literele mici diferite indică diferențe semnificative datorate tratamentului (P<0,05), în timp ce literele majuscule diferite indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare (P<0,05).

Acoperirile comestibile au redus oxidarea lipidică a probelor de carne comparativ cu martorul (tabelul 10.2). Acoperirile cu extracte de plante au fost cele mai eficiente (reducere cu 44,53% și 37,91% a valorilor TBARS comparativ cu martorul pentru CWL și, respectiv, CCS) și au prezentat, de asemenea, cea mai mare activitate antioxidantă.

După 15 zile de depozitare în stare frigorifică, valorile TBARS ale probelor acoperite cu chitosan au fost cu 12,7% mai mici decât cele ale probelor martor. Acest lucru se poate datora proprietăților antioxidante ale chitosanului și permeabilității sale scăzute la oxigen [65]. În plus, oxidarea s-a diminuat deoarece acoperirea a împiedicat interacțiunea dintre aer și suprafața cărnii.

Tabelul 10.2. Valorile TBARS ale chiftelelor de porc în timpul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile (mg MDA/kg)

Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
	0	5	10	15
C	0.72 ± 0.03 ^{aA}	1.42 ± 0.09 ^{bB}	2.39 ± 0.14 ^{cC}	3.93 ± 0.20 ^{dD}
CH	0.96 ± 0.05 ^{cA}	1.30 ± 0.08 ^{bB}	2.12 ± 0.11 ^{bC}	3.43 ± 0.16 ^{bD}
CWL	0.82 ± 0.03 ^{bA}	1.10 ± 0.06 ^{aB}	1.55 ± 0.08 ^{aC}	2.18 ± 0.09 ^{aD}
CCS	0.78 ± 0.04 ^{abA}	1.02 ± 0.04 ^{aB}	1.48 ± 0.07 ^{aC}	2.44 ± 0.12 ^{aD}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicat. Litere mici diferite în aceeași coloană indică diferențe semnificative datorate tratamentului (P<0,05), în timp ce litere majuscule diferite indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare (P<0,05).

Compoziția filmului de chitosan ar putea, de asemenea, să contribuie la permeabilitatea sa mai scăzută la O₂. Chitosanul este insolubil în apă, dar este ușor solubil în acizi organici diluați [66]. În acest studiu a fost utilizat acidul acetic ca solvent pentru a forma acoperirea de chitosan. În studii anterioare, filmul de chitosan cu acid acetic s-a raportat a avea un coeficient de permeabilitate la O₂ mai scăzut decât filmele de chitosan cu acid lactic sau acid formic [67] dar o rezistență mai mică la apă față de alte filme de chitosan realizate cu alți acizi [68]. Comparativ cu probele acoperite cu chitosan, valorile TBARS ale CWL și CCS au fost mai scăzute datorită prezenței extractelor antioxidante, iar CWL a avut cel mai bun efect.

Oxidarea lipidică s-a intensificat semnificativ (P < 0,05) în timpul depozitării, în special în chiftelele martor, care au prezentat cea mai mare creștere a valorilor TBARS. Acest lucru

poate fi atribuit deshidratării parțiale a chiftelelor de porc și oxidării crescute a acizilor grași nesaturați. Potrivit lui Campo [69], o valoare TBARS de 2 mg MDA/kg a fost considerată drept prag pentru detectarea senzorială a aromelor de ranced în carnea de vită. În acest studiu, valoarea inițială TBARS a chiftelelor gătite a fost de 0,72-0,96 mg MDA/kg și a depășit 2 mg MDA/kg în ziua 10 de depozitare pentru probele martor și probele acoperite cu chitosan. Cu toate acestea, valorile TBARS pentru CWL și CCS au depășit 2 mg MDA/kg în ziua 15.

Probele de carne acoperite cu chitosan au prezentat o activitate antioxidantă mai mare ($P < 0,05$) în raport cu probele martor, probabil datorită activității antioxidante a chitosanului (tabelul 10.3). Alte studii au arătat că chitosanul, ca strat de acoperire, interacționează cu componentele din suprafața alimentelor, mărind proprietățile antioxidante ale acestora [70].

Activitatea de captare a radicalilor liberi a scăzut semnificativ ($P < 0,05$) pe parcursul perioadei de depozitare de 15 zile. Nu s-a constatat o diferență semnificativă între CWL și CCS în ceea ce privește activitatea antioxidantă a chiftelelor din carne de porc.

Probele tratate cu CWL și CCS au avut o valoare mai scăzută a pH-ului față de probele acoperite cu chitosan și cele martor (tabelul 10.4). Cu toate acestea, s-au constatat diferențe semnificative între chiftelele acoperite cu chitosan și celelalte tratamente numai după 5 zile de depozitare frigorifică. Valoarea pH-ului a crescut la începutul perioadei de depozitare și apoi a scăzut ușor.

Tabelul 10.3. Activitatea antioxidantă ABTS a chiftelelor de porc în timpul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile

Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
	0	5	10	15
C	0.44 ± 0.02 ^{aD}	0.40 ± 0.02 ^{aC}	0.36 ± 0.02 ^{aB}	0.29 ± 0.02 ^{aA}
CH	0.51 ± 0.03 ^{bC}	0.46 ± 0.02 ^{bBC}	0.42 ± 0.03 ^{bAB}	0.38 ± 0.03 ^{bA}
CWL	0.75 ± 0.04 ^{cB}	0.73 ± 0.03 ^{cB}	0.63 ± 0.03 ^{cA}	0.61 ± 0.03 ^{cA}
CCS	0.72 ± 0.03 ^{cC}	0.68 ± 0.03 ^{dBC}	0.64 ± 0.02 ^{cB}	0.58 ± 0.03 ^{cA}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicat. Litere mici diferite în aceeași coloană indică diferențe semnificative datorate tratamentului ($P < 0,05$), în timp ce litere majuscule diferite în același rând indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare ($P < 0,05$).

Tabelul 10.4. pH-ul chiftelelor de porc în timpul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile

Tratament	Perioada de depozitare (zile)			
	0	5	10	15
C	6.07 ± 0.03 ^B	6.22 ± 0.03 ^{abC}	5.97 ± 0.06 ^A	5.89 ± 0.05 ^A
CH	6.05 ± 0.03 ^B	6.27 ± 0.02 ^{bC}	5.93 ± 0.03 ^A	5.87 ± 0.05 ^A
CWL	6.02 ± 0.07 ^B	6.19 ± 0.05 ^{aC}	5.91 ± 0.03 ^A	5.88 ± 0.07 ^A
CCS	6.00 ± 0.06 ^B	6.17 ± 0.02 ^{aC}	5.92 ± 0.05 ^{AB}	5.91 ± 0.04 ^A

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicat. Litere mici diferite în aceeași coloană indică diferențe semnificative datorate tratamentului ($P < 0,05$), în timp ce litere majuscule diferite în același rând indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare ($P < 0,05$).

Valorile luminozității au crescut cu timpul de păstrare pentru toate tratamentele. Valorile a* ale chiftelelor tratate cu CWL și CCS au fost mai mici decât cele ale probelor martor și ale celor acoperite cu chitosan (CH) în ziua 0, și această tendință a fost păstrată pe toată perioada de depozitare. S-a înregistrat o scădere semnificativă a roșeții (valorile a*) în toate probele, indicând modificarea culorii de la roșu la maro.

Tabelul 10.5. Parametrii de culoare ai chiftelelor din carne de porc în timpul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile

Parametrii de culoare	Tratament ¹	Perioada de depozitare (zile)			
		0	5	10	15
L*	C	60.95 ± 0.38 ^{aA}	63.20 ± 1.17 ^{abB}	66.23 ± 1.56 ^{bC}	67.20 ± 0.93 ^{cC}
	CH	64.31 ± 0.91 ^{bA}	64.73 ± 1.57 ^{bcA}	65.93 ± 2.49 ^{bAB}	67.64 ± 1.51 ^{cB}
	CWL	59.93 ± 2.00 ^{aA}	62.63 ± 0.16 ^{aB}	62.57 ± 0.54 ^{aB}	62.59 ± 0.57 ^{aB}
	CCS	61.98 ± 1.69 ^{aA}	65.91 ± 0.94 ^{cB}	69.98 ± 0.56 ^{cC}	65.41 ± 0.52 ^{bB}
a*	C	4.34 ± 0.32 ^{abC}	3.49 ± 0.23 ^{aB}	3.22 ± 0.07 ^{aB}	3.12 ± 0.03 ^{bA}
	CH	4.56 ± 0.27 ^{bD}	3.93 ± 0.08 ^{bC}	3.53 ± 0.17 ^{abB}	3.08 ± 0.13 ^{abA}
	CWL	3.85 ± 0.42 ^{aB}	3.74 ± 0.18 ^{abB}	3.71 ± 0.84 ^{abB}	2.76 ± 0.41 ^{aA}
	CCS	3.87 ± 0.25 ^{aB}	3.72 ± 0.27 ^{abB}	3.95 ± 0.12 ^{bB}	2.77 ± 0.42 ^{abA}
b*	C	14.91 ± 0.78 ^b	14.75 ± 0.61 ^{ab}	15.31 ± 0.56 ^b	15.55 ± 0.29 ^b
	CH	15.00 ± 0.85 ^b	15.58 ± 0.34 ^c	15.43 ± 0.76 ^b	15.15 ± 0.54 ^b
	CWL	13.80 ± 0.66 ^{aA}	14.39 ± 0.34 ^{aB}	14.25 ± 0.39 ^{aB}	14.85 ± 0.65 ^{abB}
	CCS	13.75 ± 0.55 ^{aA}	15.15 ± 0.50 ^{bcB}	16.76 ± 0.22 ^{cC}	13.80 ± 0.66 ^{aA}
C	C	15.53 ± 0.83 ^b	15.16 ± 0.65 ^{ab}	15.64 ± 0.56 ^b	15.86 ± 0.28 ^b
	CH	15.68 ± 0.89 ^b	16.07 ± 0.34 ^c	15.83 ± 0.78 ^b	15.46 ± 0.55 ^b
	CWL	14.33 ± 0.73 ^a	14.87 ± 0.29 ^a	14.74 ± 0.25 ^a	15.12 ± 0.75 ^{ab}
	CCS	14.29 ± 0.60 ^{aA}	15.60 ± 0.54 ^{bcB}	17.22 ± 0.24 ^{cC}	14.33 ± 0.73 ^{aA}
H	C	73.79 ± 0.50 ^{abA}	76.72 ± 0.37 ^{bB}	78.11 ± 0.32 ^{bC}	78.67 ± 0.27 ^{bC}
	CH	73.09 ± 0.09 ^{aA}	75.84 ± 0.35 ^{abB}	77.11 ± 0.34 ^{abC}	78.53 ± 0.21 ^{bD}
	CWL	74.45 ± 1.05 ^{bA}	75.43 ± 0.94 ^{aA}	75.41 ± 3.46 ^{aA}	79.54 ± 1.03 ^{aB}
	CCS	74.29 ± 0.42 ^{bA}	76.20 ± 0.66 ^{abB}	76.75 ± 0.23 ^{abB}	79.07 ± 1.05 ^{aC}

* Datele reprezintă media ± deviația standard a trei replicat. Literale mici diferite indică diferențe semnificative datorate tratamentului (P < 0,05), în timp ce literale majuscule diferite indică diferențe semnificative datorate perioadei de păstrare (P<0,05).

10.4. Concluzii parțiale

Rezultatele acestui studiu au arătat că acoperirile pe bază de chitosan au fost eficiente în controlul oxidării lipidelor în chiftelele din carne de porc. Acoperirile au întârziat pierderea de umiditate și au menținut valori acceptabile ale pH-ului de-a lungul perioadei de depozitare studiate. Încorporarea extractelor de frunze de nuc și de codițe de cireșe în acoperiri pe bază de chitosan a îmbunătățit protecția antioxidantă, oferind un avantaj în prevenirea oxidării lipidelor în produsele din carne. Acoperirile pe bază de chitosan ce încorporează extracte antioxidante au prezentat valori TBARS scăzute, care au rămas sub limitele de acceptabilitate timp de 10 zile de depozitare frigorifică. Cu toate acestea, sunt necesare îmbunătățiri suplimentare pentru a dezvolta o aplicare mai reușită a acoperirilor comestibile îmbogățite cu extracte de plante.

CAPITOLUL 11

CONCLUZII FINALE

→ Frunzele de nuc și cozile de cireșe reprezintă o sursă valoroasă de compuși fenolici, cu o imensă valoare nutraceutică, pentru dezvoltarea produselor din carne funcționale de interes comercial.

→ Utilizarea pulberilor și extractelor din frunze de nuc și cozi de cireșe ca ingredient în producția de produse din carne de porc tocată îmbunătățește valoarea nutrițională și stabilitatea la depozitare a produsului. Adăugarea acestor extracte sau pulberi a întârziat degradarea oxidativă a chiftelelor din carne de porc pre-coapte în cursul depozitării în stare refrigerată timp de 15 zile, a determinat creșterea activității antioxidante în produs, în același timp având efecte pozitive asupra proprietăților senzoriale și acceptabilității generale a acestora.

→ Un adaos de 0,2% pulbere de frunze de nuc exercită un efect de întârziere a oxidării lipidice similar cu adaosul de 0,1% BHT. În plus, pulberea de frunze de nuc contribuie la retenția de umiditate în produsul finit și la creșterea randamentului la coacere.

→ Pulberile și extractele de frunze de nuc și cozi de cireșe au potențial ca surse naturale și ieftine de antioxidanți pentru carne și produse din carne. Mai mult, aplicarea acestora în industria cărnii poate fi foarte valoroasă și de dorit din punct de vedere al beneficiilor pentru sănătate având în vedere conținutul foarte ridicat de antioxidanți naturali extrem de eficienți. Folosirea frunzelor de nuc și a cozilor de cireșe pentru extinderea duratei de valabilitate a produselor din carne de porc ar putea satisface solicitările consumatorilor moderni pentru ingrediente alimentare naturale, sigure și sănătoase.

→ Adăugarea extractelor apoase de frunze de nuc și cozi de cireșe sau a pudrei din frunze de nuc nu a avut efect bacteriostatic asupra microflorei autohtone din chiftelele din carne de porc pre-coapte.

→ Extractele din frunze de nuc și din codițe de cireșe s-au dovedit a fi inhibitori eficienți ai oxidării lipidelor și deteriorării culorii (brunificării) în timpul depozitării în stare congelată a cărnii de porc crude, tocate și sărate. Adaosul extractelor din frunze de nuc și din codițe de cireșe în chiftelele din carne de porc a limitat reacțiile oxidative mai mult decât BHT, un antioxidant sintetic. Aceste efecte ar putea fi atribuite prezenței compușilor fenolici antioxidanți în extracte, care acționează ca agenți de captare a radicalilor liberi și întârzie formarea metmioglobinei în produsul din carne.

→ Extractele de frunze de nuc și cele de cozi de cireșe adăugate la acoperirile pe bază de chitosan au îmbunătățit protecția antioxidantă oferită de chitosan și au avut efecte pozitive asupra calității chiftelelor din carne de porc în timpul păstrării în stare refrigerată. Acoperirile active pe bază de chitosan au întârziat pierderea de umiditate și au menținut valori acceptabile ale pH-ului de-a lungul perioadei de depozitare.

→ Acoperirea de chitosan având încorporate extracte antioxidante are potențialul de a satisface cererea consumatorilor pentru alimente fără conservanți chimici și poate reprezenta un ambalaj activ bun pentru prelungirea duratei de valabilitate a cărnii și produselor din carne de porc. Prin urmare, aceste acoperiri pot avea potențial pentru a fi dezvoltate în materiale funcționale de ambalare pentru alimente și reprezintă o alternativă promițătoare la materialele sintetice. Utilizarea acestui tip de acoperiri poate fi considerată o tehnologie emergentă având ca scop prelungirea duratei de viață a unor produse din carne gata de consum.

CAPITOLUL 12

CONTRIBUȚII ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRILOR

În baza rezultatelor experimentale originale obținute în teză se pot evidenția drept contribuții științifice următoarele:

→ Obținerea pulberilor și extractelor apoase de frunze de nuc și cozi de cireșe și caracterizarea lor din punct de vedere al conținutului total de compuși fenolici, flavonoide, activității antioxidante DPPH și ABTS și al profilului fenolic.

→ Analiza variației sezoniere a conținutului total de compuși fenolici din frunzele de nuc în vederea stabilirii momentului optim de colectare a acestora pentru obținerea pulberilor și extractelor biologic active.

→ Evaluarea stabilității oxidative și stabilității culorii cărnii de porc tocate pre-gătite cu adaos de pulbere din frunze de nuc, la niveluri de adaos de 0,2% și 0,5%, în raport cu un martor fără adaos antioxidant și un martor activ cu adaos de 0,1% butilhidroxitoluen.

→ Evaluarea eficacității extractelor de frunze de nuc și de cozi de cireșe și a pulberii din frunze de nuc ca inhibitori ai oxidării lipidelor și ai deteriorării culorii chiftelelor din carne de porc preparate, supuse depozitării în stare refrigerată. În plus, în aceste experimente s-au urmărit compoziția chimică și randamentul la coacere, evoluția pH-ului, conținutului total de compuși fenolici, activității antioxidante precum și evoluția caracteristicilor senzoriale (aspect, culoare, gust) și acceptabilității generale ale chiftelelor din carne de porc pre-coapte.

→ Evaluarea activității antimicrobiene a pulberii din frunze de nuc și a extractelor de frunze de nuc și cozi de cireșe în chiftelele gătite din carne de porc.

→ Investigarea potențialului de utilizare al infuziilor din frunze de nuc și din codițe de cireșe pentru creșterea stabilității oxidative în timpul depozitării în stare congelată a chiftelelor din carne de porc crudă. Culoarea, pH-ul și activitatea antioxidantă a chiftelelor din carne de porc crudă congelate au fost de asemenea evaluate timp de nouă luni de depozitare la -18 °C. Butilhidroxitoluenul (BHT) a fost utilizat ca antioxidant martor pozitiv în acest studiu.

→ Evaluarea eficacității acoperirilor comestibile pe bază de chitosan conținând extracte de frunze de nuc și extracte de codițe de cireșe pentru reducerea pierderii de umiditate și oxidării lipidelor în chiftelele de porc pre-coapte, în timpul depozitării în stare frigorifică.

Rezultatele obținute constituie o bază de date științifice care pot fi punctul de plecare în vederea continuării cercetărilor cu privire la îmbunătățirea valorii funcționale a produselor din carne prin adaosul de pulberi și extracte naturale cu proprietăți antioxidante. Industria alimentară poate folosi aceste resurse vegetale ca sursă de antioxidanți naturali în produsele alimentare procesate. De asemenea, acoperirile comestibile active ce înglobează extracte naturale antioxidante pot fi dezvoltate în materiale funcționale de ambalare pentru alimente și reprezintă o alternativă promițătoare la materialele sintetice.

Cercetările viitoare ar trebui să includă studii de optimizare a procedurilor de extracție a compușilor biologic activi din aceste resurse vegetale cu potențial antioxidant ridicat, studii legate de siguranța alimentară a acestor produse și studii pentru definirea combinațiilor dietetice optime și/sau nivelurilor minime ale pulberilor sau extractelor necesare pentru obținerea celei mai mari stabilități în produsul finit. În plus, alte studii ar trebui să investigheze aplicarea de noi amestecuri de antioxidanți naturali pentru a dezvolta produse cu structuri noi, utilizând tehnici precum încapsularea sau nanotehnologia.

CAPITOLUL 13

DISEMINAREA REZULTATELOR CERCETARILOR EFECTUATE PE TEMATICA TEZEI DE DOCTORAT

Articole/studii publicate în reviste cotate ISI

1. Boruzi A.I., Nour V. 2019. Walnut (*Juglans regia* L.) leaf powder as a natural antioxidant in cooked pork patties. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 431-438, DOI: 10.1080/19476337.2019.1596984 (IF=1,605)

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2019.1596984>

2. Boruzi A.I., Nour V. 2019. Antioxidant effects of walnut leaves and sweet cherry stems on color, lipid oxidation and sensory quality of cooked pork patties. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 47(3), 47(3), 763-771, DOI:10.15835/nbha47311458 (IF=0,648)

<https://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/11458>

3. Boruzi A.I., Nour V. 2020. Effect of chitosan based edible coating enriched with extracts from walnut leaves and sweet cherry stems on the quality of precooked pork patties. *Journal of Food Safety and Food Quality* – accept de publicare

Articole/studii publicate în reviste ISI emerging

1. Boruzi A.I., Nour V. 2019. Efficacy of walnut leaves and sweet cherry stems as natural antioxidants in raw pork patties during frozen storage – *Scientific Study & Research - Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20 (4), pp. 551 – 561. ISSN 1582-540X. <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=csc6&num=201904&vol=4&aid=4955>

Articole/studii publicate în reviste indexate in baze de date internationale BDI

1. Boruzi A.I., Nour V. 2016. Reduction or replacement of nitrite in processed meat products. *Analele Universității din Craiova, seria Biologie, Horticultură, Tehnologia Prelucrării Produselor Agricole, Ingineria Mediului*, vol. XXI (LVII), Craiova, 277-282. ISSN 1435-1275. <http://horticultura.ucv.ro/horticultura/analele-universitatii-din-craiova-seria-biologie-horticultur%C4%83-tehnologia-prelucr%C4%83rii-produselor>

2. Boruzi A.I., Nour V. 2017. Extracts of herbs and spices as natural antioxidants for Improving the functional value of meat products. *Analele Universității din Craiova, seria Biologie, Horticultură, Tehnologia Prelucrării Produselor Agricole, Ingineria Mediului*, vol. XXII (LVIII), 25-

32. http://horticultura.ucv.ro/horticultura/sites/default/files/horticultura/Reviste/Analele/2017/anal_e2017_sectiuneai_pp_1_340.pdf

3. Tuțulescu F., Boruzi A.I., Nour V. 2019. Antibacterial activity of walnut leaves and sweet cherry stems in cooked pork patties. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, Vol.10, No.2, pp.65-75 / art.e19105. <http://biozoojournals.ro/swjhbe/v10n2.html>

Articole comunicate la sesiuni științifice naționale

1. Boruzi A.I., Nour V. 2018. Effect of adding walnut leaf powder as natural antioxidant in cooked pork patties. *Scientific Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, SCDS-UDJG 2018, The 6th Edition, Galați, 7th-8th of June 2018* – lucrarea a fost distinsă cu premiul al III-lea.

2. Boruzi A.I., Nour V. 2019. Efficacy of the walnut leaf and sweet cherry stem extracts

as natural antioxidants in raw pork patties during frozen storage. Scientific Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, SCDS-UDJG 2019, The 7th Edition, Galați, 13th-14th of June 2019 – lucrarea a fost distinsă cu mențiune.

3. Boruzi A.I., Nour V. 2020. Effect of chitosan edible coating enriched with extracts from walnut leaves and sweet cherry stems on the quality of precooked pork patties during cold storage. Scientific Conference of Doctoral Schools – Perspectives and challenges in doctoral research, SCDS-UDJG 2020, The 8th Edition, Galați, 18th-19th of June 2020 – lucrarea a fost distinsă cu mențiune.

BIBLIOGRAFIE

1. Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Alvarez, J. A. (2005). Meat products as functional foods: A review. *Journal of food science*, 70(2), R37-R43.
2. Prado, I. N., Campo, M. M., Muela, E., Valero, M. V., Catalan, O., Olleta, J. L., & Sañudo, C. (2015). Effects of castration age, protein level and lysine/methionine ratio in the diet on colour, lipid oxidation and meat acceptability of intensively reared Friesian steers. *animal*, 9(8), 1423-1430.
3. Maqsood, S., & Benjakul, S. (2011a). Comparative studies on molecular changes and pro-oxidative activity of haemoglobin from different fish species as influenced by pH. *Food Chemistry*, 124(3), 875-883.
4. Kumar, Y., Yadav, D. N., Ahmad, T., & Narsaiah, K. (2015). Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 796-812.
5. Faustman, C., Sun Q., Mancini Q., Suman, S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86–94.
6. Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry*, 100(4), 1409-1418.
7. Artés, F., Gómez, P. A., & Artés-Hernández, F. (2007). Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. *Food Science and Technology International*, 13(3), 177-188.
8. Tanzadehpanah, H., Asoodeh, A., & Chamani, J. (2012). An antioxidant peptide derived from Ostrich (*Struthio camelus*) egg white protein hydrolysates. *Food research international*, 49(1), 105-111.
9. Asoodeh, A., Azam, A. G., & Chamani, J. (2012). Identification and characterization of novel antibacterial peptides from skin secretions of *Euphyctis cyanophlyctis*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 18(2), 107-115.
10. Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55(1), 184-185.
11. Ponce, M. A., Scervino, J. M., Erra-Balsells, R., Ocampo, J. A., & Godeas, A. M. (2004). Flavonoids from shoots and roots of *Trifolium repens* (white clover) grown in presence or absence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Phytochemistry*, 65(13), 1925-1930.
12. Sebranek, J. G., Sewalt, V. J. H., Robbins, K., & Houser, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat science*, 69(2), 289-296.
13. Muchuweti, M., Kativu, E., Mupure, C. H., Chidewe, C., Ndhkala, A. R., & Benhura, M. A. N. (2007). Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology*, 2(5), 414-420.
14. Ozsoy, N., Candoken, E., & Akev, N. (2009). Implications for degenerative disorders: Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and β -tocopherol in *Aloe vera*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(2), 99-106.
15. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
16. Lupea, A. X., Pop, M. A. R. I. A. N. A., & Cacicig, S. V. E. T. L. A. N. A. (2008). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids from *Ziziphus* and *Hydrangea* extracts. *Rev Chim*, 59(3), 309-13.
17. Gheldof, N., & Engeseth, N. J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3050-3055.
18. Brown, J. E., & Kelly, M. F. (2007). Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins,

- anthocyanidins and their phenolic degradation products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(1), 66-71.
19. Tang, S. Z., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J., & Morrissey, P. A. (2001). Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. *Meat Science*, 57(3), 331-336.
 20. Matuska, M., Lenart, A., & Lazarides, H. N. (2006). On the use of edible coatings to monitor osmotic dehydration kinetics for minimal solids uptake. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 85-91.
 21. Guilbert, S., Gontard, N., & Gorris, L. G. (1996). Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LWT-food science and technology*, 29(1-2), 10-17.
 22. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., & Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.
 23. Krochta, J. M., & Mulder-Johston, C. (1997). *Food Technology: Edible and Biodegradable Polymer Films Challenges and Opportunities (Scientific Status Summary)* 51 (2).
 24. Pothakamury, U. R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1995). Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in food science & technology*, 6(12), 397-406.
 25. Glicksman, M. (1983). Gum arabic (Gum acacia). *Food hydrocolloids*, 2, 7-29.
 26. Whistler, R. L., & Daniel, J. R. (1985). *Carbohydrates in food chemistry*. Academic Press, New York.
 27. Nisperos-Carriedo, M. O. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. *Edible coatings and films to improve food quality*, 1, 322-323.
 28. Ben, A., & Kurth, L. B. (1995). Edible film coating for meat cuts and primal. Meat 95, The Australian Meat Industry Research Conference.
 29. Fernandez-Saiz, P., Lagaron, J. M., & Ocio, M. J. (2009). Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 913-921.
 30. Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of food science*, 70(1), M45-M51.
 31. Ziani, K., Fernández-Pan, I., Royo, M., & Maté, J. I. (2009). Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2309-2314.
 32. Arvanitoyannis, I. S. (2008). The use of chitin and chitosan for food packaging applications. In *Environmentally compatible food packaging* (pp. 137-158). Woodhead Publishing.
 33. Sebti, I., Martial-Gros, A., Carnet-Pantiez, A., Grelier, S., & Coma, V. (2005). Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger* contamination. *Journal of food science*, 70(2), M100-M104.
 34. Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., & Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of food science*, 67(3), 1162-1169.
 35. Coma, V., Deschamps, A., & Martial-Gros, A. (2003). Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer—antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants. *Journal of food science*, 68(9), 2788-2792.
 36. Durango, A. M., Soares, N. F. F., & Andrade, N. J. (2006). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food control*, 17(5), 336-341.
 37. Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33(1), 67-78.
 38. Park, S. I., Daeschel, M. A., & Zhao, Y. (2004). Functional properties of antimicrobial lysozyme-chitosan composite films. *Journal of Food Science*, 69(8), M215-M221.
 39. Ribeiro, C., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., & Miranda, C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and*

- Technology, 44(1), 63-70.
40. Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., & Gerschenson, L. N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762-769.
 41. Labuckas, D. O., Maestri, D. M., Perello, M., Martinez, M. L., & Lamarque, A. L. (2008). Phenolics from walnut (*Juglans regia* L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins. *Food Chemistry*, 107(2), 607-612.
 42. Samaranyaka, A. G., John, J. A., & Shahidi, F. (2008). Antioxidant activity of English walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Food Lipids*, 15(3), 384-397.
 43. Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C., Bento, A., Estevinho, L., & Pereira, J. A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and chemical toxicology*, 46(7), 2326-2331.
 44. Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., & Colaric, M. (2006). Traditional walnut liqueur–cocktail of phenolics. *Food chemistry*, 95(4), 627-631.
 45. Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C., Bento, A., & Estevinho, L. (2008). Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food and chemical toxicology*, 46(6), 2103-2111.
 46. Rahimipannah, M., Hamedi, M., & Mirzapour, M. (2010). Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. *Afr. J. Food Sci. Technol*, 1(4), 105-111.
 47. Cosmulescu, S. N., Trandafir, I., Achim, G., Mihai, B. O. T. U., Baciú, A., & Gruia, M. (2010). Phenolics of green husk in mature walnut fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 53-56.
 48. Cosmulescu, S. N., Baciú, A., Achim, G., Mihai, B. O. T. U., & Trandafir, I. (2009). Mineral composition of fruits in different walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2), 156-160.
 49. Cosmulescu, S. N., Trandafir, I., Achim, G., & Baciú, A. (2011). Juglone content in leaf and green husk of five walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 237-240.
 50. Hooman, N., Mojab, F., Nickavar, B., & Pouryousefi-Kermani, P. (2009). Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(4), 381-383.
 51. Di Cagno, R., Surico, R. F., Minervini, G., Rizzello, C. G., Lovino, R., Servili, M., ... & Gobbetti, M. (2011). Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 28(5), 900-909.
 52. Ademović, Z., Hodžić, S., Zahirović, Z. H., Husejnagić, D., Džananović, J., Šarić-Kundalić, B., & Suljagić, J. (2017). Phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial properties of the wild cherry (*Prunus avium* L.) stem. *Acta Periodica Tehnologica*, 48, 1-13.
 53. Bastos, C., Barros, L., Dueñas, M., Calhella, R. C., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2015). Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems. *Food chemistry*, 173, 1045-1053.
 54. Martínez, M. L., Labuckas, D. O., Lamarque, A. L., & Maestri, D. M. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12), 1959-1967.
 55. Carvalho, K. C. C., Mulinari, D. R., Voorwald, H. J. C., & Cioffi, M. O. H. (2010). Chemical modification effect on the mechanical properties of hips/coconut fiber composites. *BioResources*, 5(2), 1143-1155.
 56. Solar, A., Colarič, M., Usenik, V., & Stampar, F. (2006). Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science*, 170(3), 453-461.
 57. Jakopic, J., Colaric, M., Veberic, R., Hudina, M., Solar, A., & Stampar, F. (2007). How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur?. *Food Chemistry*, 104(1), 100-105.

58. Aithal, K. B., Kumar, S. M., Rao, N. B., Udupa, N., & Rao, S. B. (2009). Juglone, a naphthoquinone from walnut, exerts cytotoxic and genotoxic effects against cultured melanoma tumor cells. *Cell biology international*, 33(10), 1039-1049.
59. Verma, S. P., & Sahoo, J. (2000). Improvement in the quality of ground chevon during refrigerated storage by tocopherol acetate preblending. *Meat science*, 56(4), 403-413.
60. Faustman, C., & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1(3), 217-243.
61. Rhee, K. S., & Ziprin, Y. A. (2001). Pro-oxidative effects of NaCl in microbial growth-controlled and uncontrolled beef and chicken. *Meat Science*, 57(1), 105-112.
62. Kagan, V. E. (2018). *Lipid peroxidation in biomembranes*. CRC press.
63. Al-Kahtani, H. A., Abu-Tarboush, H. M., Bajaber, A. S., Atia, M., Abou-Arab, A. A., & El-Mojaddidi, M. A. (1996). Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. *Journal of food science*, 61(4), 729-733.
64. Teets, A. S., Sundararaman, M., & Were, L. M. (2008). Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid oxidation in cooked salted ground chicken breast. *Food Chemistry*, 111(4), 934-941.
65. Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A., & Nag, D. (2005). Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Industrial crops and Products*, 21(2), 185-192.
66. Rodriguez-Sanchez, Dolores., & Rha, C. (1981). Chitosan globules. *International Journal of Food Science & Technology*, 16(5), 469-479.
67. Caner, C., Vergano, P. J., & Wiles, J. L. (1998). Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of food science*, 63(6), 1049-1053.
68. Rhim, J. W., Weller, C. L., & Ham, K. S. (1998). Characteristics of chitosan films as affected by the type of solvent acid. *Food Science and Biotechnology*, 7(4), 35-40.
69. Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72(2), 303-311.
70. Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest biology and technology*, 49(2), 294-300.