



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA

**CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,  
TECNOLÓGICOS E ESTRUTURAIS DE FILÉS DE  
FRANGO SPAGHETTI MEAT E APLICAÇÃO  
EM PRODUTOS CÁRNEOS**

---

Londrina  
2020

FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA

**CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,  
TECNOLÓGICOS E ESTRUTURAIS DE FILÉS DE  
FRANGO SPAGHETTI MEAT E APLICAÇÃO  
EM PRODUTOS CÁRNEOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Lourenço Soares Russo.

Londrina  
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

M539 MENDONÇA, FERNANDA JÉSSICA.  
Caracterização de parâmetros bioquímicos e estruturais de filés de frango Spaghetti meat e aplicação em produtos cárneos / FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA. - Londrina, 2020.  
127 f.

Orientador: ADRIANA LOURENÇO SOARES.  
Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2020.  
Inclui bibliografia.

1. Histologia - Tese. 2. Qualidade de carne - Tese. 3. Piridinolinas - Tese. 4. Força de cisalhamento - Tese. I. LOURENÇO SOARES, ADRIANA . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 641.1

FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA

**CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,  
TECNOLÓGICOS E ESTRUTURAIS DE FILÉS DE  
FRANGO SPAGHETTI MEAT E APLICAÇÃO  
EM PRODUTOS CÁRNEOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriana Lourenço  
Soares Russo  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Carlos Eduardo Rocha Garcia  
Universidade Federal do Parana - UFPR

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Andresa Carla Feihrmann  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Prof. Dr. Alexandre Oba  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Helena Prudencio  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 04 de dezembro de 2020.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e por ter me guiado até aqui.

A professora Adriana Lourenço Soares, que nesses últimos 9 anos foi mais que orientadora, foi uma grande amiga, que me apoiou, ouviu, orientou, e me acolheu nos momentos difíceis e de alegria também.

A professora Margarida Masami Yamaguchi, sempre querida, que doou as tripas para elaboração das salsichas de frango.

Ao professor Selwyn Arlington Headley e a sua aluna Thalita Evani Silva de Oliveira pela colaboração valiosa nas análises de microscopia óptica.

Ao professor Denis Fabrício Marchi que me ajudou na coleta das aves e contribuiu em análises durante o doutorado.

Aos professores Alexandre Oba e Sandra Helena Prudêncio pelas valiosas contribuições na banca de qualificação.

Aos professores que aceitaram participar da banca de defesa e pelas inúmeras contribuições que certamente virão.

Ao grupo de carnes, um presente que a vida me deu, aos que passaram e aos que permanecem. Esse grupo me fez crescer e aprender muito, obrigada especialmente Juliana Nunes de Almeida e Gleice dos Santos Almeida, pelas primeiras análises e Ana Clara Longhi Pavanello, pelas últimas. Obrigada a todos e todas por todas as horas de aprendizados e ensinamentos, de cansaço, de laboratório, de alegrias e de tristezas. Incluam-se aqui as estagiárias e estagiários, muito importantes para o desenvolvimento da pesquisa. Eu amo cada um de vocês.

Obrigada aos amigos de UEL que a graduação, o mestrado e o doutorado me deram, é difícil citar o nome de tantos, mas preciso listar alguns: Adriana Passos Dias, Lívia Montanheiro Médici, Fernanda Silva Farinazzo, Dafne Garcia Pereira, Bruna Yoshida, Bruna Raquel Böger, Bruno Matheus Simões, Julyene Francisco, Rebeca Catarino, Claudimara Portela, Sara Nunes Rodrigues, Letícia Aparecida Marques, Talita Kato e José Renato da Silva.

Aos meus amigos e amigas da vida, que me apoiaram, torceram e

rezaram por mim, e que mesmo diante da distância que o doutorado impôs, continuaram ao meu lado. Obrigada especialmente as melhores amigas que Deus poderia me dar, Gabriela Ghelere Bueno, Jéssica Nataly Migoto e Ingridh Fernandes Beliato.

Obrigada Erika Watanabe, colega de trabalho, e Fabio Vandresen, meu chefe, pelo apoio e compreensão nesses últimos 1 ano e meio.

Obrigada aos meus pais Fernando e Isabel, que nunca deixaram de acreditar em mim, de torcer, de vibrar pelas pequenas e grandes conquistas, que me deram amor, tiveram paciência (e muita), que me incentivaram incondicionalmente. Minhas conquistas são nossas. Amo vocês.

Obrigada ao meu marido e companheiro de vida, Ighor. Obrigada pela paciência, pela colaboração, por sonhar comigo e me fazer acreditar que eu posso chegar onde quiser. Você foi fundamental nessa jornada.

Finalmente, obrigada UEL por ter sido minha casa nesses últimos 11 anos. Gratidão é pouco por todo o crescimento que me proporcionou, eu jamais serei capaz de pagar por tudo que aprendi, que vivi e que cresci aqui. Sempre haverá muito amor nas lembranças da vida nesta instituição. UEL eu te amo!

**Aos meus pais Fernando e Isabel,  
e ao meu marido Ighor, dedico.**

MENDONÇA, Fernanda Jéssica. **Caracterização de parâmetros bioquímicos e estruturais de filés de frango *Spaghetti meat* e aplicação em produtos cárneos**. 2020. 127 fl. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) –Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

## RESUMO

A miopatia *Spaghetti meat* (SM) é caracterizada por alterações estruturais no tecido conjuntivo intramuscular do peito de frango, que apresenta aspecto fragmentado das fibras semelhante a um macarrão espaguete, razão pelo qual foi denominada de “carne espaguete”. Estudos sobre esta miopatia e os impactos econômicos ainda são escassos. Assim, o objetivo desta pesquisa foi caracterizar filés SM através da avaliação dos parâmetros bioquímicos, histopatológicos, tecnológicos e funcionais e, além disso, elaborar e avaliar formulações de salsicha de frango e de filés de frango marinados cozidos desfiados congelados utilizando-se filés SM, como alternativa para o emprego das carnes com esta anomalia. Os filés foram provenientes de um frigorífico comercial e foram classificados, após a separação mecânica, por um especialista treinado através de avaliação visual em filés SM (àqueles com a presença de fibras enfraquecidas e/ou soltas) e filés Normais (sem alterações visuais). Ambos filés foram analisados quanto a sua composição química aproximada, histopatologia, pH, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), força de cisalhamento, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cozimento (PPC), desnaturação proteica, capacidade de emulsificação, teor de colágeno total, solúvel e insolúvel e comparação estimada entre o teor de piridinolinas. Salsichas de carne de frango e frango desfiado foram elaborados com filés SM e normais e foram avaliados quanto a composição química, cor, CRA, aroma de requentado, atividade de água, perda de peso por descongelamento, perfil de textura e oxidação lipídica durante o armazenamento. Os filés com miopatia SM apresentaram menor teor de proteínas (3,28%), necrose moderada a severa do endomísio e extensiva necrose do perimísio, cor mais amarelada (12,52%), menor força de cisalhamento (crus 22,07% e cozidos 32,75%), menor CRA (3,22%), maior PPC (11,35%), menores teores de colágeno total (14,68%) e insolúvel (18,58%) e menor razão entre o teor de colágeno e proteínas (12,13%) quando comparados com filés Normais. Não houve diferenças entre os dois tipos de filés quanto a composição de lipídios, cinzas, umidade, pH, parâmetros de cor  $L^*$  e  $a^*$ , desnaturação proteica, capacidade de emulsificação, teor de colágeno solúvel e comparação estimada do teor de piridinolinas. Estas características são concordantes com o aspecto visual e de textura de filés de frango SM, e corroboram a ideia de que o rápido crescimento das aves e a imaturidade do colágeno depositado na estrutura muscular contribuem para o desenvolvimento desta anomalia. Em relação aos produtos elaborados com filés SM apresentaram menor teor de proteínas (3,9% nas salsichas e 5,6% no frango desfiado) ocasionando menor CRA quando comparados aos produtos elaborados com filés Normais. Os filés SM não afetaram a oxidação lipídica e dureza das salsichas e nem oxidação lipídica, aroma de requentado e parâmetros de cor  $L^*$  e  $b^*$  no frango desfiado. Os resultados demonstraram que o emprego de filés SM na elaboração de salsichas de frango e frango desfiado é uma alternativa viável para aproveitamento destes filés, reduzindo prejuízos econômicos.

**Palavras-chave:** Colágeno. Força de cisalhamento. Histologia. Piridinolina.

MENDONÇA, Fernanda Jéssica. **Biochemical and structural parameters characterization of Spaghetti meat chicken fillets and application in meat products**. 2020. 127 fl. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

## ABSTRACT

Spaghetti meat (SM) myopathy is characterized by structural changes in the intramuscular connective tissue of chicken breast, which presents a fragmented aspect of the fibers similar to spaghetti pasta, so it is was called “spaghetti meat”. There are few studies yet about this myopathy and the economic impacts caused. Thus, the objective of this study was to characterize SM fillets by evaluating biochemical, histopathological, technological and functional parameters and, additionally, to develop and evaluate chicken sausages formulations and frozen marinated cooked shredded chicken fillets formulations using SM fillets, as an alternative to the use of meat with this anomaly. The fillets were obtained from a commercial slaughterhouse and were classified, after mechanical separation from the carcass, by visual evaluation by a trained specialist. SM fillets were those with weakened and/or loose fibers, and Normal fillets were those without visual changes. Both fillets were analyzed for proximate chemical composition, histopathology, pH, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), shear force, water holding capacity (WHC), cooking loss (CL), protein denaturation, emulsification capacity, total, soluble and insoluble collagen content and estimated comparison between pyridinolines content in SM and Normal fillets. Chicken meat sausages and shredded chicken were elaborated with SM fillets and Normal fillets and were evaluated for proximate chemical composition, color, WHC, warmed-over flavour, water activity, weight loss after thawing, texture profile and lipid oxidation during storage. Fillets with SM myopathy presented lower protein content (3.28%), moderate to severe necrosis of the endomysium and extensive necrosis of the perimysium, more yellowish color (12.52%), less shear force (raw 22.07% and cooked 32.75%), lower WHC (3.22%), higher CL (11.35%), lower levels of total (14.68%) and insoluble collagen (18.58%), and lower collagen/protein ratio than the Normal samples. There were no differences between the two types of fillets in relation to the lipid, ash and moisture contents, pH, color parameters  $L^*$  and  $a^*$ , protein denaturation, emulsification capacity, soluble collagen and estimated comparison of pyridinoline. These characteristics are consistent with the visual and texture aspect of SM chicken fillets, and corroborate the idea that the rapid growth of birds and the immaturity of collagen deposited in the muscular structure contribute to the development of this anomaly. In relation to products elaborated with SM fillets, they presented a lower protein content (3.9% in sausages and 5.6% in shredded chicken), causing a lower WHC when compared to products made with Normal fillets. SM fillets did not affect the lipid oxidation and hardness of the sausages, and did not affect the lipid oxidation, warmed-over flavour and color parameters  $L^*$  and  $b^*$  in the shredded chicken. The results showed that the use of SM fillets in the elaboration of chicken sausages and shredded chicken is a viable alternative for using these fillets, reducing economic losses.

**Key-words:** Collagen. Shear Force. Histology. Pyridinoline.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – (a) Representação esquemática da organização estrutural macroscópica do musculo esquelético (b) Fotomicrografia de uma seção transversal de parte de um musculo esquelético (30x)..... 20
- Figura 2** – Esquema da anatomia microscópica da fibra muscular esquelética ..... 22
- Figura 3** – Representação da estrutura da tripla hélice de colágeno. (a) Estrutura do cristal de uma tripla hélice de colágeno, formada por (ProHypGly)<sub>4</sub>– (ProHypAla)–(ProHypGly)<sub>5</sub>. (b) visão de baixo de uma tripla hélice (ProProGly)<sub>10</sub> com as três cadeias representadas no modelo espacial, bola e vareta e de fita. (c) Representação no modelo bola e vareta de um segmento de tripla hélice de colágeno, destacando as ligações de hidrogênio. (d) representação não espacial das interações destacadas no segmento representado em (c) ..... 24
- Figura 4** – Exemplos de grupos de colágeno de acordo com a estrutura supramolecular formada..... 25
- Figura 5** – Mecanismo proposto para reação de oxidação da hidroxiprolina a pirrol. A hidroxiprolina representada em (I) e oxidada inicialmente a ácido  $\alpha$ -ceto- $\gamma$ -hidroxi- $\delta$ -aminovalerico linear (II), que permanece em equilíbrio com a estrutura cíclica de ácido  $\Delta^1$ -pirrolina-4-hidroxi-2- carboxílico (III). A perda da molécula de água resulta uma estrutura instável (IV) a qual, espontaneamente, através de rearranjo, resulta em ácido pirrol-2-carboxílico (V). A etapa final de descarboxilação a pirrol (VI) ocorre durante o aquecimento após a adição do reagente cromogênico, 4-dimetilaminobenzaldeido ..... 27
- Figura 6** – Carnes acometidas pela miopatia *Spaghetti meat*: carne suína (A) e de peru (B) *in natura*, carne de frango cozida (C) e carne de frango *in natura* (D) ..... 38
- Figura 7** – Representação esquemática de um glóbulo de emulsão de carne representando uma monocamada de miosina ..... 42

## Figuras artigo 1

- Figura 1** – Histopathological findings associated with in spaghetti meat observed in chicken breast meat. A) Observed marked myositis and coagulative necrosis (asterisk) in longitudinal section. B) Observed moderate muscle fiber degeneration (star) at the transversal section, marked myositis and coagulative necrosis (asterisk) surrounded by inflammatory cells (arrows). Hematoxylin & Eosin stain. Bar, A 100  $\mu\text{m}$ , B 50  $\mu\text{m}$  ..... 68
- Figura 1** – Supplementary material. Fillet areas used in the analyses ..... 86
- Figura 2** – Supplementary material. Fluorescence spectra (200 – 500 nm) obtained for (a) Normal and (b) SM samples ..... 88
- Figura 3** – Supplementary material. (A) Internal and external surface of Normal raw chicken breast meat; (B) Internal and external disintegrated surface of SM raw chicken breast meat; (C) Piece of Normal Chicken breast meat after cooked; (D) piece of SM chicken breast meat after cooked (with gaps between fibers)..... 89

## Figuras artigo 2

- Figura 1** – Lipid oxidation values (mg malondialdehyde  $\text{kg}^{-1}$  sample) of Chicken sausages prepared from spaghetti meat (SM) and normal Chicken breast (control) during 90 days of storage at 4  $^{\circ}\text{C}$  ..... 101
- Figura 2** – (a) Hardness, (b) cohesiveness, (c) elasticity, and (d) chewability of chicken sausages prepared from spaghetti meat (SM) and normal chicken breast (control) during 90 days of storage at 4  $^{\circ}\text{C}$  ..... 104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 –</b>	Formulação da salsicha de carne de frango .....	52
-------------------	---	----

### Tabelas artigo 1

<b>Table 1 –</b>	Proximate chemical composition of Normal and SM chicken breast meat .....	70
<b>Table 2 –</b>	Color parameters ( $L^*$ , $a^*$ and $b^*$ ) and pH values of Normal and SM Chicken breast meat .....	71
<b>Table 3 –</b>	Functional and technological properties of Normal and SM chicken breast meat .....	73
<b>Table 4 –</b>	Collagen/protein ratio, total, soluble and insoluble collagen content, and estimated comparison between the pyridinoline levels (CNT) of Normal and SM chicken breast meat.....	76

### Tabelas artigo 2

<b>Table 1 –</b>	Proximate composition and water activity ( $a_w$ ) of chicken sausages prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken breast (control) .....	99
<b>Table 2 –</b>	Color parameters ( $L^*$ , $a^*$ , and $b^*$ ) and water-holding capacity (WHC) of chicken sausages prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken breast (control) during 90 days of storage at 4 °C .....	102
<b>Table 3 –</b>	Proximate chemical composition and water activity ( $a_w$ ) of shredded Chicken prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control) .....	106
<b>Table 4 –</b>	Lipid oxidation (TBARS) and warmed-off flavor (WOF) values of shredded chicken prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control) during 60 days of storage at -18 °C.....	107
<b>Table 5 –</b>	Color parameters ( $L^*$ , $a^*$ , and $b^*$ ) and thawing weight loss (TWL) of shredded chicken prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control) during 60 days of storage at -18 °C .....	108

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$a_w$	Atividade de água
ATP	Adenosina trifosfato
CMS	Carne mecanicamente separada
CRA	Capacidade de retenção de água
DHLN	Dehidrodihidroxisinonorleucina
HLN	Dehidrohidroxilisinonorleucina
PPC	Perda de peso por cozimento
PPD	Perda de peso por descongelamento
PSE	Pálida, macia, exudativa (da sigla inglesa <i>Pale, Soft, Exudative</i> )
SM	Carne espaguete (da sigla inglesa <i>Spaghetti Meat</i> )
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido 2-tiobarbitúrico
TPA	Análise de Perfil de Textura (da sigla inglesa <i>Texture Profile Analysis</i> )
WB	Peito amadeirado (da sigla inglesa <i>wooden breast</i> )
WOF	Aroma de requentado (da sigla inglesa <i>Warmed-Over Flavour</i> )
WS	Estriações brancas (da sigla inglesa <i>White striping</i> )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
3.1	ESTRUTURA DO TECIDO MUSCULAR .....	20
3.2	COLÁGENO.....	23
3.3	TRANSFORMAÇÃO DO MUSCULO EM CARNE .....	28
3.4	QUALIDADE DA CARNE .....	30
3.4.1	pH e Cor.....	32
3.4.2	Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	34
3.4.3	Textura .....	36
3.5	MIOPATIA <i>SPAGHETTI MEAT</i> .....	37
3.6	SALSICHA.....	40
3.7	FILÉ DE FRANGO MARINADO COZIDO E DESFIADO .....	43
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	46
4.1	MATERIAL .....	46
4.2	MÉTODOS .....	46
4.2.1	Caracterização dos Files de Frango.....	46
4.2.1.1	Medida de pH.....	47
4.2.1.2	Medida de cor .....	47
4.2.1.3	Capacidade de retenção de água (CRA) .....	47
4.2.1.4	Perda de peso por cozimento (PPC).....	47
4.2.1.5	Força de cisalhamento .....	48
4.2.1.6	Capacidade de emulsificação .....	48
4.2.1.7	Avaliação histopatológica.....	48
4.2.1.8	Desnaturação proteica .....	49
4.2.1.9	Composição química aproximada .....	49
4.2.1.10	Teor de colágeno .....	49

4.2.1.10.1	<i>Teor total de colágeno (TC)</i> .....	49
4.2.1.10.2	<i>Teor de colágeno solúvel (SC)</i> .....	50
4.2.1.10.3	<i>Comparação estimada do teor de piridinolinas</i> .....	50
4.2.1.11	Análise estatística .....	51
4.2.2	Elaboração e Caracterização de Salsichas de Frango .....	51
4.2.2.1	Elaboração das salsichas de frango .....	51
4.2.2.2	Medida de cor .....	53
4.2.2.3	Determinação da atividade de água ( $a_w$ ).....	53
4.2.2.4	Capacidade de retenção de água (CRA) .....	53
4.2.2.5	Análise de perfil de textura (TPA) .....	53
4.2.2.6	Análise de oxidação lipídica - teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbiturico (TBARS).....	53
4.2.2.7	Composição química aproximada .....	54
4.2.2.8	Análise estatística .....	54
4.2.3	Elaboração e Caracterização de File de Frango Marinado Cozido e Desfiado.....	54
4.2.3.1	Elaboração do filé de frango marinado cozido e desfiado.....	54
4.2.3.2	Medida de cor .....	55
4.2.3.3	Determinação da atividade de água ( $a_w$ ).....	55
4.2.3.4	Perda de peso por descongelamento (PPD).....	55
4.2.3.5	Análise de oxidação lipídica – teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbiturico (TBARS) .....	56
4.2.3.6	Aroma de requeijado (WOF).....	56
4.2.3.7	Composição química aproximada .....	56
4.2.3.8	Análise estatística .....	56
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>57</b>
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1 - BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGICAL, TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF BROILER BREAST WITH THE EMERGING ABNORMALITY <i>SPAGHETTI MEAT</i> .....	57
5.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2 - ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS CARNEOS UTILIZANDO FILÉS DE FRANGO COM MIOPATIA <i>SPAGHETTI MEAT</i> .....	91

<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>116</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>117</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>126</b>
	<b>ANEXO A – Aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina.....</b>	<b>127</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O setor avícola brasileiro ocupa lugar de destaque no cenário mundial, uma vez que o Brasil é o maior exportador de carne de frango. De janeiro a agosto de 2020, o país exportou mais de 2,8 milhões de toneladas de carne de frango *in natura* e produtos processados, o que representa um aumento de 1,8% em relação ao mesmo período do ano passado, mesmo em um cenário de pandemia da doença COVID-19 (ABPA, 2020). Em 2019, o consumo *per capita* de carne de frango foi de 42,8 kg, absorvendo 68% da produção total (EMBRAPA, 2020).

A indústria avícola busca pelo aprimoramento de seus produtos, primando pela qualidade e maciez associadas a uma produção mais rápida e lucrativa. E tem se baseado em práticas como adaptações na dieta, criação e seleção genética de linhagens de frangos de corte. Como resultados, além dos efeitos positivos como o rápido crescimento da ave, modificações proteicas, estruturais e o surgimento de miopatias vêm ganhando destaque como efeitos colaterais negativos (VELLEMAN *et al.*, 2003; ZAPATA *et al.*, 2012; SOGLIA *et al.*, 2018; SOGLIA; MAZZONI; PETRACCI, 2019).

A ocorrência de miopatias como *white striping* (WS) e *wooden breast* (WB) tem sido exponencialmente reportadas nos últimos anos, e alguns autores associam o rápido crescimento do frango e a seleção genética como possíveis fatores relacionados a estes problemas (KUTTAPPAN *et al.*, 2013; PETRACCI *et al.*, 2014; VELLEMAN; CLARK, 2015; SOGLIA *et al.*, 2016, SOGLIA *et al.*, 2018; SOGLIA; MAZZONI; PETRACCI, 2019).

A miopatia denominada *Spaghetti meat* (SM), embora ainda relatada com menor frequência, é uma alteração estrutural no filé de frango caracterizada pela textura fragmentada apresentada pela carne, que pode desintegrar-se com a pressão dos dedos. A carne com esta anomalia apresenta baixa coesão estrutural e a imaturidade do tecido conjuntivo pode estar relacionada ao problema (VOUTILA *et al.*, 2009; PETRACCI; CAVANI, 2012; BALDI *et al.*, 2018; SOGLIA; MAZZONI; PETRACCI, 2019; TASONIERO *et al.*, 2020).

O comprometimento visual dos filés ocasionado por miopatias faz com que sejam destinados a condenação parcial ou aplicação na elaboração de produtos processados, como salsicha, mortadela, *nuggets*, entre outros (PETRACCI *et al.*, 2015). Em geral, produtos que levam adição de carne mecanicamente separada

(CMS) e miúdos, como a salsicha, são mais baratos e acessíveis a população, além de serem menos afetados pelas variações de preço de grãos (GUERREIRO, 2006). A variação de preço do frango inteiro sofreu aumento acumulado de 12,01% no ano de 2019, enquanto a salsicha aumentou apenas 2,77% (IBGE, 2020).

Outra opção de produto processado, no qual podem ser utilizados filés acometidos por miopatias, é o filé de frango marinado cozido e desfiado, comercializado na forma congelada, sendo necessário apenas que consumidor aqueça o produto para o consumo. Este tipo de alimento enquadra-se na categoria *ready-to-eat food* (alimento pronto para comer), assim como lasanhas e pizzas congeladas que só precisam ir ao micro-ondas, e atualmente possuem alta demanda em virtude de sua praticidade (KIELING; DELARCO; PRUDÊNCIO, 2019). A marinação confere sabor agradável ao produto cárneo, além de diminuir as perdas de massa durante a cocção em virtude da adição de sais, agregando valor ao produto e gerando lucros (SMITH; ACTON, 2010).

Destaca-se que a até o presente momento, não foram encontrados resultados na literatura referentes a aplicações de filés SM em produtos cárneos, a utilização destas carnes em produtos emulsionados ou com maior valor agregado pode ser uma alternativa viável para reduzir perdas econômicas, sendo necessário avaliação das características do produto final. Assim, torna-se importante investigar alterações bioquímicas, histopatológicas, tecnológicas e estruturais do tecido conjuntivo intramuscular de filés de frango SM, e avaliar as características de produtos elaborados com filés SM, como salsicha e filé de frango marinado cozido e desfiados visando diminuir o impacto desta anomalia no setor avícola. Espera-se que os resultados possam contribuir para futuras soluções ou alternativas para o emprego de filés SM.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar, caracterizar e comparar parâmetros bioquímicos, histopatológicos e tecnológicos de filés de frango *Spaghetti meat* (SM) e Normais;
- Elaborar produtos cárneos empregando filés de frango SM e Normais, e avaliá-los em relação a parâmetros de qualidade.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar e comparar os filés SM e Normais em relação a pH, cor, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento, capacidade de emulsificação, desnaturação proteica, composição química aproximada, teores de colágeno total, solúvel e insolúvel e teor estimado de piridinolinas.
- Avaliar a morfologia geral do tecido quanto a alterações histopatológicas através de microscopia óptica.
- Elaborar e caracterizar salsichas de carne de frango com filés SM e Normais e compará-los em relação a cor, atividade de água ( $a_w$ ), capacidade de retenção de água (CRA), perfil de textura (TPA), oxidação lipídica (TBARS) e composição química aproximada.
- Elaborar e caracterizar filés de frango marinados cozidos e desfiados empregando-se filés SM e Normais e compará-los em relação a cor, atividade de água ( $a_w$ ), perda de peso por descongelamento (PPD), oxidação lipídica (TBARS), aroma de requentado (WOF) e composição química aproximada.

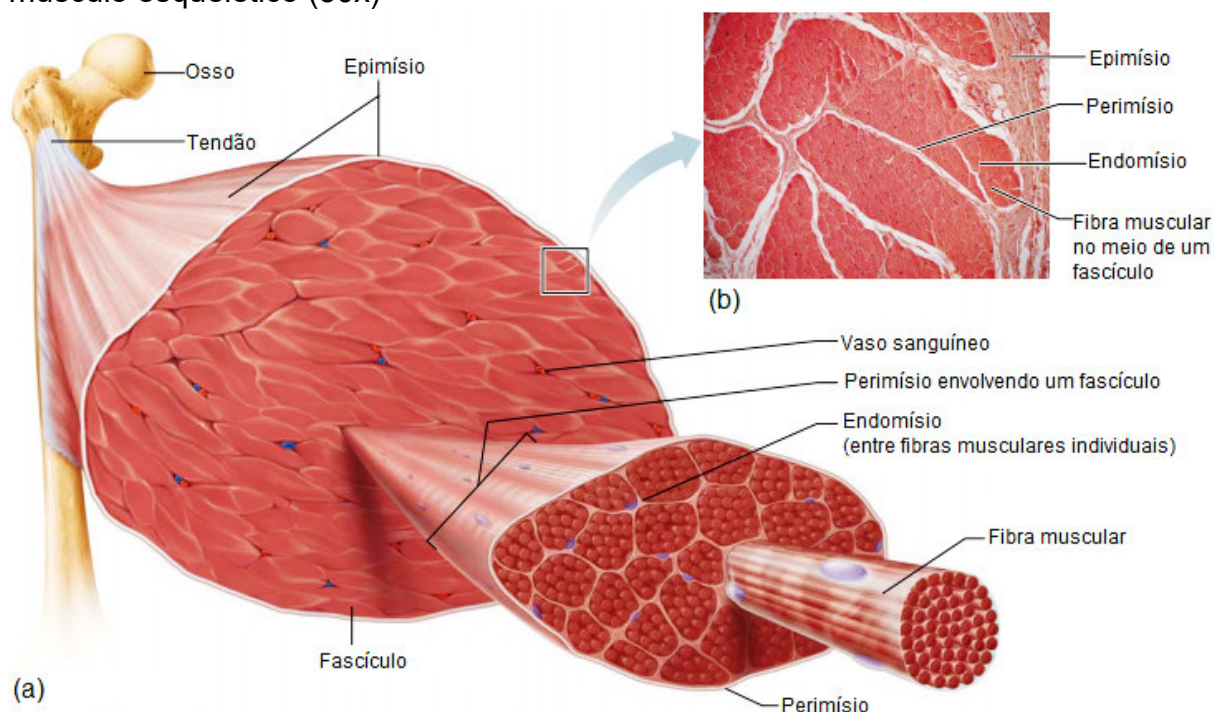
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ESTRUTURA DO TECIDO MUSCULAR

Compreender a organização da estrutura muscular e seus constituintes básicos é importante para um bom entendimento das propriedades afetadas em filés SM e dos fenômenos que ocorrem durante a transformação do tecido muscular em carne.

A musculatura esquelética é formada por três tipos de tecido: o muscular estriado, o conjuntivo propriamente dito (ou fibroso) e o adiposo, sendo o tecido conjuntivo o principal responsável pela sustentação muscular (MARIEB; HOEHN, 2012). O músculo esquelético é composto por uma estrutura complexa e hierárquica, em que a unidade estrutural é a fibra muscular, como representado na Figura 1.

**Figura 1** – (a) Representação esquemática da organização estrutural macroscópica do músculo esquelético (b) Fotomicrografia de uma seção transversal de parte de um músculo esquelético (30x)



**Fonte:** Marieb; Hoehn (2012. Adaptado).

Macroscopicamente observam-se feixes (fascículos) de fibras celulares alongadas e multinucleadas que contribuem para o aspecto estriado do

músculo esquelético. Envolvendo estes fascículos encontra-se uma camada externa de tecido conjuntivo denominado epimísio. Os finos tecidos que se estendem para dentro e envolvem os feixes constituem o perimísio, enquanto que a unidade de tecido conjuntivo que envolve cada fibra recebe o nome de endomísio (PURSLOW, 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; MARIEB; HOEHN, 2012).

A membrana da célula muscular é chamada de sarcolema e o citoplasma de sarcoplasma (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). Além disso, a célula é multinucleada e possui três estruturas altamente modificadas, como as miofibrilas, o retículo sarcoplasmático e os túbulos T, que desempenham importante papel no processo de contração muscular (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; MARIEB; HOEHN, 2012).

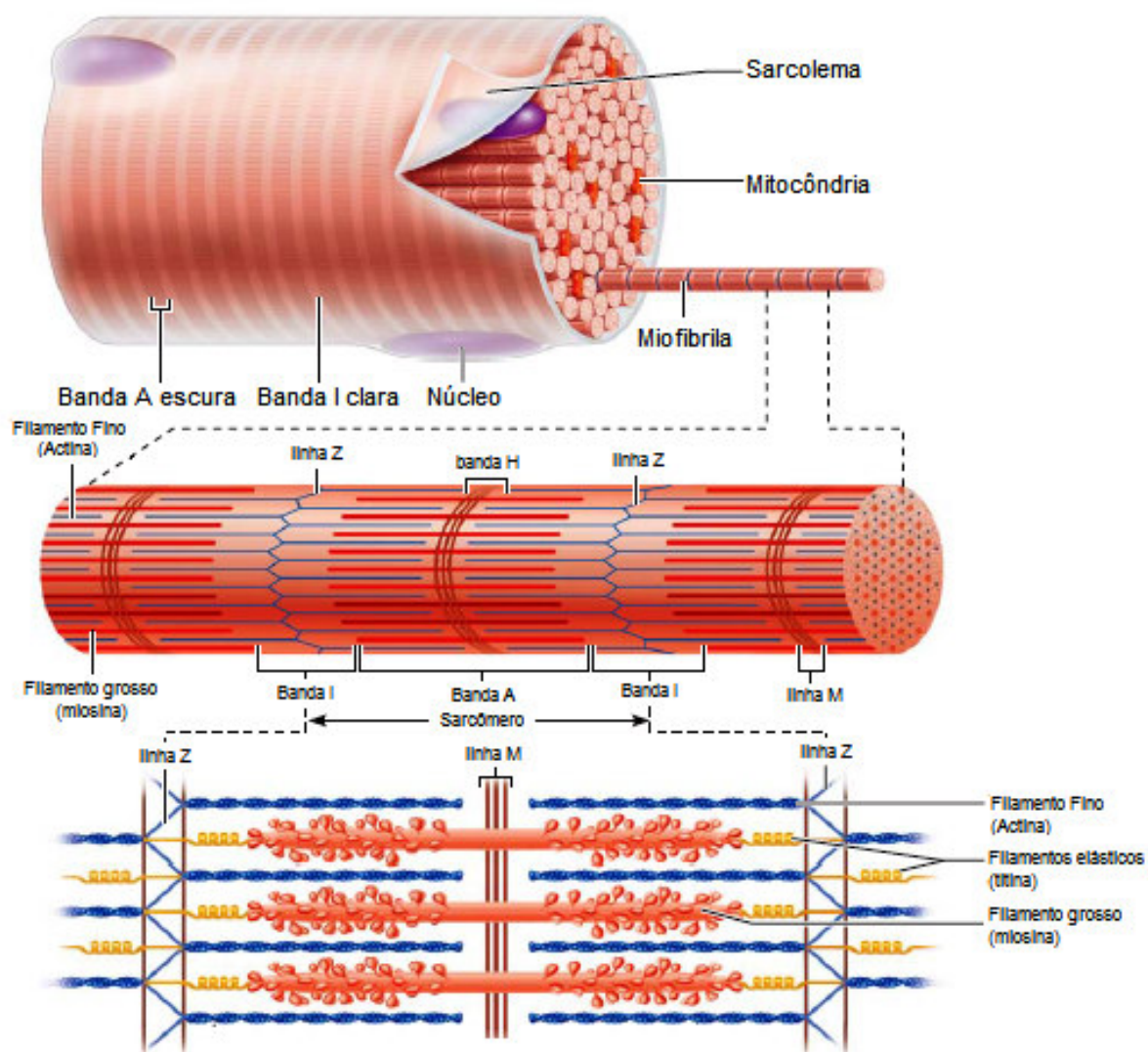
As miofibrilas possuem um arranjo ordenado de miofilamentos, em que os filamentos grossos se denominam miosina e os finos actina. Essa organização confere o aspecto estriado da miofibrila, que é composta pela banda I, formada por filamentos finos não invadidos por filamentos grossos, e pela banda A, formada principalmente por filamentos grossos. A banda H localiza-se no centro da banda A e é formada somente pelos filamentos grossos. No centro de cada banda I aparece uma linha transversal escura denominada linha Z. A distância entre duas linhas Z é conhecida como sarcômero, que é a menor porção da fibra muscular com capacidade de contração e distensão (Figura 2) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; MARIEB; HOEHN, 2012).

Mais de 65 proteínas estão associadas à estrutura dos sarcômeros, dentre elas, nebulina, titana e troponina, e podem ser divididas em três grandes classes: as proteínas miofibrilares, as sarcoplasmáticas ou as do estroma (FRATERMAN *et al.*, 2007; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

As proteínas miofibrilares correspondem a maior classe de proteínas do tecido muscular, de 50 a 60%, dentre elas as proteínas responsáveis pela contração muscular, como actina e miosina, pela regulação da contração, como tropomiosina e troponinas, além das proteínas citoesqueléticas responsáveis pela estruturação da organela, como titina, desmina, actininas e nebulina. Como características, as proteínas desse grupo solubilizam-se em soluções salinas com concentrações maiores que  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  e são conhecidas como a fração solúvel em sais das proteínas musculares. Essas características são importantes tanto do ponto de vista fisiológico quanto do ponto de vista tecnológico, uma vez que estas proteínas

correspondem a aproximadamente 50% da maciez e 97% da capacidade de retenção de água da carne, ou seja, da suculência (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

**Figura 2** – Esquema da anatomia microscópica da fibra muscular esquelética



**Fonte:** Marieb; Hoehn (2012. Adaptado).

A fração de proteínas sarcoplasmáticas, encontradas no sarcoplasma, corresponde a cerca de 30% do músculo. Formam esse grupo enzimas que atuam no metabolismo celular, como a creatina quinase e as enzimas glicolíticas, a mioglobina, principal responsável pela coloração da carne, e enzimas de importante papel tecnológico após o abate do animal, como o complexo enzimático de calpaínas que atuam no processo de amaciamento da carne maturada. Como características, algumas proteínas sarcoplasmáticas apresentam solubilidade em água (albuminas) e

outras em soluções salinas diluídas (globulinas) (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

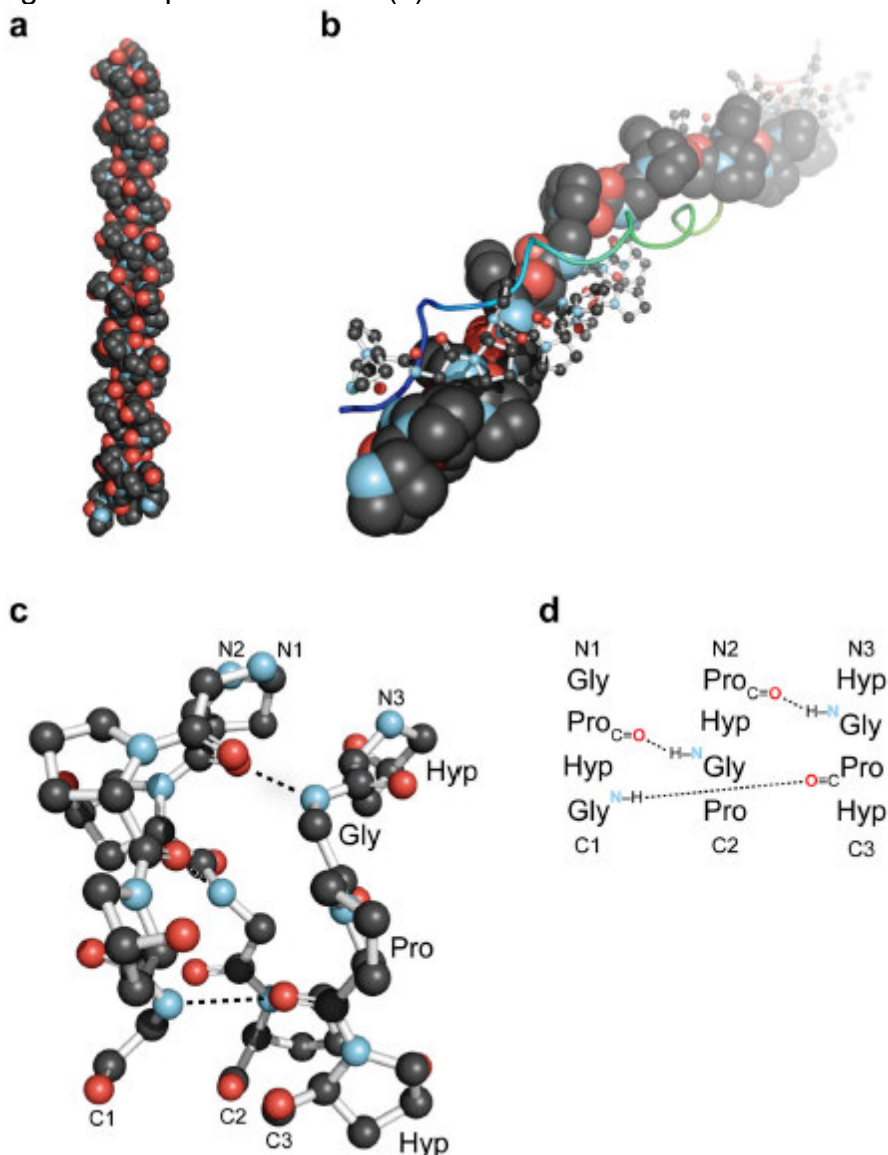
As proteínas do estroma correspondem a cerca de 10 a 20% das proteínas musculares, mas variam com fatores como idade e espécie, e possuem função de sustentação do tecido. Estas proteínas gelatinizam-se sob calor e são insolúveis em água e solução salina, mas solúveis em condições mais ácidas e básicas. Dentre as principais proteínas deste grupo encontram-se a elastina, a reticulina e o colágeno (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

### 3.2 COLÁGENO

O perimísio e o endomísio constituem o tecido conjuntivo intramuscular e contribuem para a dureza da carne, são ricos em colágeno e elastina. O colágeno é uma proteína fibrosa que corresponde a cerca de 30% do total de proteínas dos mamíferos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; RICARD-BLUM, 2011). O colágeno desempenha papel estrutural e confere propriedades mecânicas aos tecidos, é o principal constituinte das cartilagens e tecidos conectivos, possui elevado teor de prolina, glicina e hidroxiprolina em sua constituição (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

São conhecidos 28 tipos de colágeno distintos geneticamente e que são denominados por algarismos romanos (tipo I até tipo XXVIII) (RICARD-BLUM, 2011). A unidade estrutural do colágeno é o tropocolágeno (Figura 3), e três unidades estruturais unidas de forma torcida, associadas por interações químicas, em hélice dão origem à fibrila de colágeno (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; SHOULDERS; RAINES, 2009; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). As cadeias polipeptídicas, denominadas de cadeias alfa ( $\alpha$ -), apresentam uma sequência básica estrutural de aminoácidos, composta por um terço de glicina, medindo em torno de 280 nm e podem ser idênticas ou diferentes na sequência de aminoácidos, dependendo do tipo de colágeno (SHOULDERS; RAINES, 2009; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE, RAMOS, FONTES, 2013). Alguns tipos de colágeno são restritos a alguns tecidos e, portanto, apresentam funções biológicas específicas (RICARD-BLUM, 2011).

**Figura 3** - Representação da estrutura da tripla hélice de colágeno. (a) Estrutura do cristal de uma tripla hélice de colágeno, formada por (ProHypGly)<sub>4</sub>–(ProHypAla)–(ProHypGly)<sub>5</sub>. (b) Visão de baixo de uma tripla hélice (ProProGly)<sub>10</sub> com as três cadeias representadas no modelo espacial, bola e vareta e de fita. (c) Representação no modelo bola e vareta de um segmento de tripla hélice de colágeno, destacando as ligações de hidrogênio. (d) Representação não espacial das interações destacadas no segmento representado em (c)

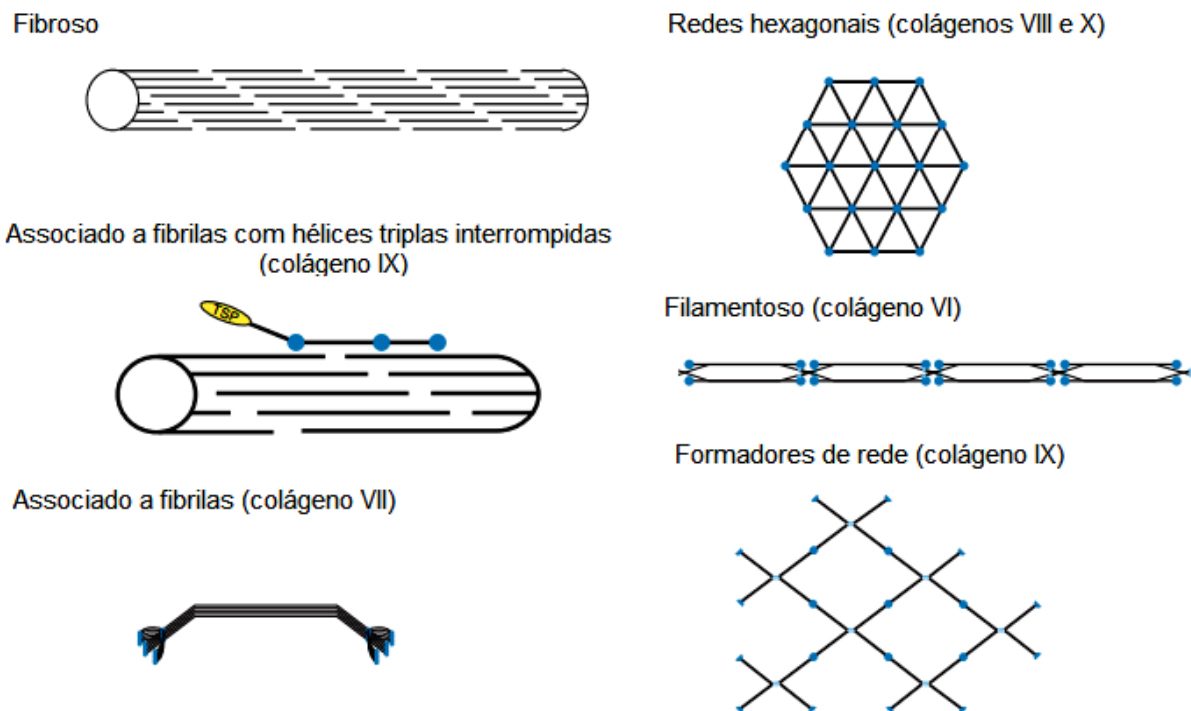


Fonte: Adaptado de Ricard-Blum, (2011).

O colágeno é classificado em grupos (Figura 4), de acordo com a estrutura supramolecular que ele forma, são eles: colágeno fibroso, colágeno formador de rede, colágeno filamentososo e colágeno associado a fibrilas (SHOULDERS; RAINES, 2009; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; RICARD-BLUM, 2011). Os colágenos formadores de fibrilas são responsáveis por 90% dos tipos de colágeno existentes, e desempenham papel estrutural nos tecidos (RICARD-

BLUM, 2011).

**Figura 4** – Exemplos de grupos de colágeno de acordo com a estrutura supramolecular formada



**Fonte:** Shoulders; Raines, (2009).

O colágeno do tipo I é considerado o mais importante e é o principal tipo constituinte da pele, tendões, ligamentos e ossos de mamíferos (SHOULDERS; RAINES, 2009; RICARD-BLUM, 2011). Ele é formado por duas cadeias polipeptídicas  $\alpha_1(I)$  e por uma cadeia  $\alpha_2(I)$  (RICARD-BLUM, 2011). Uma cadeia de polipeptídeos comum, típica deste tipo de colágeno, apresenta cerca de 1000 resíduos de aminoácidos com repetições ao longo da cadeia da sequência  $(Gly-X-Y)_n$ , em que o resíduo X, é quase sempre a prolina, e o Y a hidroxiprolina ou hidroxilisina. Os outros aminoácidos são formados por hidroxilação pós-translacional de prolina e lisina, através da prolil hidroxilase e pela lisil hidroxilase, respectivamente. Em geral, a composição aproximada do colágeno é de 33% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados (SHOULDERS; RAINES, 2009; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Os aminoácidos hidroxiprolina e glicina são diferenciais na molécula de colágeno, proporcionando características especiais a essa proteína. A

hidroxiprolina confere estabilidade térmica à molécula de colágeno e é encontrada em quantidade significativa somente em proteínas de colágeno (RICARD-BLUM, 2011). A glicina, por sua vez, permite que o colágeno assumira sua conformação diferenciada em tripla hélice, o tamanho reduzido do átomo hidrogênio, em comparação a outras cadeias de aminoácidos, faz com que a glicina seja o único aminoácido cuja cadeia pode adaptar-se (SHOULDERS; RAINES, 2009; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

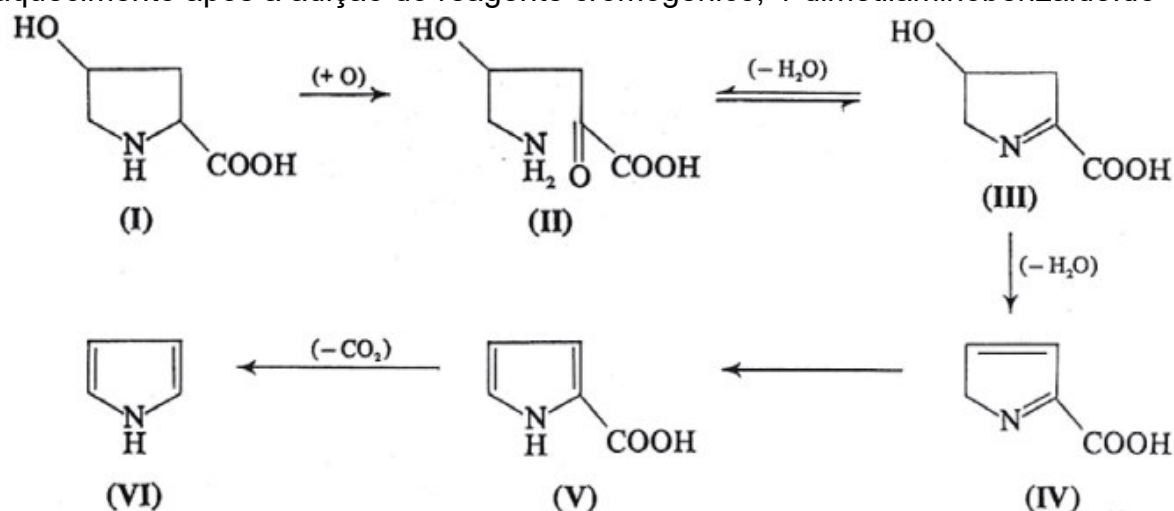
As moléculas de colágeno são sintetizadas nos tecidos a partir da formação do pró-colágeno, precursor do tropocolágeno, por fibroblastos em diversos tecidos, por condrócitos na cartilagem e por osteoblastos no tecido ósseo. O pró-colágeno é secretado na forma de uma tripla hélice com extremidades não-helicoidais e pela ação de peptidases que clivam os domínios não helicoidais, o pró-colágeno torna-se tropocolágeno. As cadeias de tropocolágeno por sua vez, se autopolimerizam para formar uma fibrila colágena com estriações (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

A análise de quantificação do colágeno em tecidos animais requer sua extração por meio de sua solubilização em solução aquosa e aquecimento prolongado. A extração ainda requer a hidrólise estrutural do colágeno para obtenção da hidroxiprolina livre quantificável, que por ser comum apenas em moléculas de colágeno, é usada como indicador do teor de colágeno (WOESSNER JR, 1961; RICARD-BLUM, 2011). Sua determinação colorimétrica é feita após sua oxidação a pirrol (Figura 5) com cloramina T e reação com 4-dimetilaminobenzaldeído (reagente de Ehrlich), que resulta em um composto de coloração vermelho-púrpura (DELLA TORRE; LICHTIG; BERAQUET, 2004).

O colágeno presente na carne exerce influência sobre sua textura e seu conteúdo está relacionado ao estado de desenvolvimento do perimísio (OSHIMA *et al.*, 2009). Animais com idade mais avançada tendem a apresentar maior desenvolvimento do perimísio e conseqüentemente apresentam conteúdos de colágeno maiores. A influência sobre a textura, porém, é devida principalmente ao desenvolvimento de ligações covalentes cruzadas intermoleculares de colágeno e não necessariamente ao teor de colágeno (CORÓ, YOUSSEF, SHIMOKOMAKI, 2003; NAKAMURA *et al.*, 2004). A conversão de ligações cruzadas redutíveis em ligações cruzadas maduras ocorre progressivamente à medida que os animais atingem a maturidade fisiológica, sendo quase que total na senescência (BAILEY;

SHIMOKOMAKI, 1971; FUJIMOTO; MORIGUCHI, 1978; HORGAN *et al.*, 1991).

**Figura 5** - Mecanismo proposto para reação de oxidação da hidroxiprolina a pirrol. A hidroxiprolina representada em (I) é oxidada inicialmente a ácido  $\alpha$ -ceto- $\gamma$ -hidroxi- $\delta$ -aminovalérico linear (II), que permanece em equilíbrio com a estrutura cíclica de ácido  $\Delta'$ -pirrolina-4-hidroxi-2-carboxílico (III). A perda da molécula de água resulta uma estrutura instável (IV) a qual, espontaneamente, através de rearranjo, resulta em ácido pirrol-2-carboxílico (V). A etapa final de descarboxilação a pirrol (VI) ocorre durante o aquecimento após a adição do reagente cromogênico, 4-dimetilaminobenzaldeído



Fonte: Della Torre; Lichtig; Beraquet, (2004).

As ligações cruzadas de colágeno são formadas pelas extensões peptídicas dos grupamentos amino e carboxi-terminais, que são denominadas telepeptídeos. Essas ligações covalentes cruzadas intermoleculares de colágeno conferem a estrutura estabilidade e variam ao longo da vida dos mamíferos (SHOULDERS; RAINES, 2009; RICARD-BLUM, 2011).

No colágeno recém-sintetizado, ligações cruzadas redutíveis são formadas, mas conferem baixa estabilidade à molécula de colágeno, são as ligações aldíminas e cetoamínicas, consideradas pouco estáveis e imaturas. As ligações imaturas são importantes para a pele de animais jovens e são formadas por meio da ação da enzima lisil oxidase (BAILEY; SHIMOKOMAKI, 1971; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Durante o desenvolvimento do animal, ligações cruzadas intermoleculares intermediárias são formadas e, posteriormente, são substituídas biologicamente por ligações cruzadas permanentes, as ligações dehidrohidroxilisnonorleucina (HLN) e dehidrodihidroxilisnonorleucina (DHLN) são consideradas compostos intermediários da rota biossintética das ligações cruzadas

permanentes, ou maduras (BAILEY; SHIMOKOMAKI, 1971).

As ligações cruzadas permanentes são as que conferem maior resistência à estrutura de colágeno, são ligações irreversíveis e estão associadas à textura mais dura da carne de animais mais velhos (CORÓ, YOUSSEF, SHIMOKOMAKI, 2003). A hidroxilisilpiridinolina (HP) e a lisilpiridinolina (LP) são ligações trivalentes, não reduzíveis por boro-hidreto, estáveis ao calor e naturalmente fluorescentes. Em cartilagens, predomina-se a HP como ligação cruzada predominante, enquanto nos músculos há a prevalência da ligação LP (EYRE; KOOB; VAN NESS, 1984). A redução da solubilidade do colágeno em animais mais velhos está relacionada ao aumento da concentração das piridinolinas (CORÓ, YOUSSEF, SHIMOKOMAKI, 2003).

### 3.3 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE

O tecido muscular vivo é metabolicamente bastante desenvolvido e capaz de converter energia química em energia mecânica, seja pelo processo de respiração celular, seja pela via glicolítica anaeróbica quando o aporte de oxigênio não é suficiente (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). Após o abate do animal, porém, a interrupção do fluxo sanguíneo e a consequente interrupção do suprimento de oxigênio iniciam o processo de transformação do músculo em carne, ocorrendo modificações químicas e estruturais significativas. A forma e intensidade com que estes eventos físicos e químicos ocorrem, bem como as condições do animal antes do abate, determinam a qualidade da carne (DE FREMERY; POOL, 1963; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

A manutenção das condições metabólicas em harmonia quando o animal está vivo é também chamada de homeostase, e é em função da busca pelo reestabelecimento da homeostasia que as mudanças bioquímicas e estruturais acontecem após o abate do animal (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Após a morte do animal dá-se início ao processo de *rigor mortis*, no qual ocorre a formação de ligações cruzadas permanentes entre miofilamentos de actina e miosina, formando a actomiosina e ocasionando o enrijecimento da musculatura (DE FREMERY; POOL, 1963; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). Este processo é dependente da temperatura, pH e quantidade de glicogênio presente na musculatura dos animais antes do abate, ocorrendo de maneira mais rápida em aves que em outros animais

como suínos e bovinos (MCKEE *et al.*, 1997; LAWRIE, 2005).

Temperaturas elevadas (próximas a 40°C) aceleram a queda do pH, enquanto baixas temperaturas podem retardar esse processo, sendo necessário um maior intervalo de tempo para que o músculo alcance o pH final. Condições de estresse pré-abate também podem afetar a curva glicolítica e aumentar as taxas de glicogênio disponível no músculo, ocasionando a incidência de carnes com características PSE (*Pale, Soft, Exudative*) (OLIVO; GUARNIERI; SHIMOKOMAKI, 2001; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Logo após o abate, o animal possui disponível em sua musculatura adenosina trifosfato (ATP) e fosfocreatina, bem como pH variando entre 6,9 a 7,2 em condições normais (descanso adequado, alimentação adequada, ausência de estresse térmico, etc). *In vivo*, a ATP disponível é a principal responsável pela manutenção do metabolismo, porém quando o aporte de oxigênio cessa, em decorrência da sangria do animal, o músculo torna-se anaeróbico e a glicólise anaeróbica torna-se a principal via metabólica para geração de ATP (em quantidade inferior à do processo respiratório) (LAWRIE, 2005; OUALI *et al.*, 2006; PAREDI *et al.*, 2012). São degradadas inicialmente as reservas de fosfocreatina e em seguida as de glicogênio, que originam ácido pirúvico pela via glicolítica. Uma vez que o músculo está em anaerobiose, o ácido pirúvico não entra no ciclo de Krebs, sendo transformado em ácido láctico (reação catalisada pela lactato desidrogenase) que se acumula e é responsável pelo declínio do pH muscular (PAREDI *et al.*, 2012).

Ainda devido ao fato de haver disponibilidade de ATP no músculo logo após o abate, o transporte dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  para o retículo sarcoplasmático pelo sistema bomba de cálcio-ATP é continuado e a concentração de íons  $\text{Ca}^{2+}$  nas miofibrilas é aumentado em torno de 10 a 150 vezes, atingindo concentrações próximas de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. A presença destes íons dá início ao processo de contração muscular, similarmente à estimulação nervosa que induz a contração do músculo vivo (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Enquanto as reservas energéticas na forma de ATP forem suficientes, os miofilamentos podem mover-se e o músculo ainda possui elasticidade, em contrapartida, quando o nível de ATP é reduzido, os íons  $\text{Ca}^{2+}$  não podem mais ser removidos do meio celular e inicia-se a formação de pontes permanentes entre actina e miosina, o músculo perde a elasticidade e pode-se dizer que o *rigor mortis* foi estabelecido ou resolvido (SWATLAND, 1994; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; STRASBURG;

XIONG; CHIANG, 2010). Embora haja divergências, o mais aceito é que a conversão do músculo em carne se dá com instalação do *rigor mortis* (FAUSTMAN, 1994).

Após a resolução do *rigor mortis* inicia-se o processo de amaciamento da carne, no qual algumas proteínas, como titana, nebulina e desmina, que são responsáveis pela união entre moléculas de actina e a linha Z, começam a serem degradadas. Este processo é conhecido como maturação e ocorre devido à ação de proteases, que degradam as linhas Z, enfraquecem o sarcômero e levam ao amaciamento da carne. As principais enzimas atuantes são as calpaínas e proteases lisossômicas, como as catepsinas D, B, H e L (FAUSTMAN, 1994; KOOHMARAIE *et al.*, 2002; GOLL *et al.*, 2003; SHIMOKOMAKI *et al.*, 2006; PAREDI *et al.*, 2012).

### 3.4 QUALIDADE DA CARNE

O crescimento constante do setor avícola no cenário nacional e a manutenção dos mercados consumidores estão relacionados, principalmente, com a qualidade da carne. A qualidade da carne é uma preocupação para as empresas e para os consumidores, uma vez que é crescente a exigência por melhores produtos, tanto por parte dos consumidores locais, quanto por parte dos mercados importadores. O termo qualidade é amplo e complexo, uma vez que depende muito do ponto de vista de quem é o observador e está atrelado a inúmeros aspectos, no caso de carnes, também está atrelado a inúmeras etapas da cadeia produtiva. O conceito em si varia entre as classes econômicas, as diferentes visões industriais e as características pessoais dos consumidores (CASTILLO, 2006; GRUNERT; BREDAHL; BRUNSØ, 2004).

Para os consumidores, os atributos de maior importância na decisão para aquisição ou não do produto cárneo são a aparência, textura, suculência, cor, odor e sabor, embora alguns deles, como suculência e sabor, possam ser conhecidos apenas após a aquisição e preparo do alimento (FLETCHER, 2002; GRUNERT; BREDAHL; BRUNSØ, 2004). Na busca de que estes atributos atendam as expectativas do consumidor, cada vez mais os produtores investem em seleção genética, alimentação de alto padrão técnico e nutricional, aves com alta taxa de crescimento, baixos índices de conversão alimentar e aprimoramento de etapas da linha de abate (REMIGNON *et al.*, 1995; CASTILLO, 2006)

Fatores que não podem ser medidos pelo consumidor na hora da

compra, como pH, capacidade de retenção de água e teor de colágeno, por exemplo, são parâmetros que podem exercer influência direta sobre os atributos avaliados pelos consumidores na hora da compra, como cor e textura (FLETCHER, 2002; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; PURSLOW, 2005).

Variações de cor encontradas em diferentes cortes da carne de frango geralmente estão relacionadas ao tipo de fibra e do metabolismo predominante na região do animal onde se encontra o tecido muscular. Por exemplo, na região do peito prevalecem fibras brancas de metabolismo anaeróbico, enquanto que nas coxas, músculos de maior atividade, prevalecem as fibras vermelhas, que contêm maiores concentrações de mitocôndrias e mioglobina (OBANU, 1984; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Os principais fatores que contribuem para a coloração da carne de aves são os teores de mioglobina e hemoglobina, o estado químico desses pigmentos e o pH (FLETCHER, 2002; LAWRIE, 2005).

O pH muscular afeta a cor da carne, pois interfere na natureza da ligação da água com as proteínas e atinge diretamente a estrutura física da carne e suas propriedades de reflexão da luz (FLETCHER, 2002). Uma vez que a cor observada na superfície da carne é resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros componentes importantes, como fibras musculares e suas proteínas, as variações de pH fazem com que a cor da carne também varie (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

A capacidade de retenção de água (CRA), que descreve a habilidade do músculo reter a água mediante a aplicação de forças externas, como corte, aquecimento, trituração e pesagem, é um indicativo das propriedades funcionais da carne e da qualidade de suas proteínas. A perda de umidade afeta ainda, de maneira negativa, a maciez, textura e sabor da carne. Além de carrear nutrientes, diminuindo a sua qualidade final (LAWRIE, 2005; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). A CRA não pode ser avaliada pelo consumidor no momento da compra, mas pode ser motivo de grande insatisfação do consumidor no momento do preparo.

A textura da carne pode estar relacionada a alterações bioquímicas durante a instalação do *rigor mortis* das aves, pH da carcaça, maturação e a fatores *ante-mortem*, como idade, sexo, nutrição, exercício, e estresse durante o abate. Um dos fatores que podem levar a obtenção de uma carne de textura extremamente rígida é idade avançada dos animais, isso porque ocorre a formação de ligações cruzadas entre as estruturas do colágeno, tornando a carne irreversivelmente dura (PURSLOW,

2005; CASTILLO, 2006). A carne de animais de idade avançada não é passível de ser identificada visualmente pelo consumidor, e a aquisição deste tipo de produto pode ser causa de frustração.

O consumidor, sendo o principal avaliador da qualidade da carne, faz com que os produtores de carne e a ciência encarreguem-se do papel de garantir que suas expectativas sejam atendidas (GRUNERT; BREDAHL; BRUNSØ, 2004). Atualmente, além de análises dos principais fatores relacionados à qualidade da carne, como medida de pH, cor, CRA, avaliação da oxidação lipídica, identificação do perfil de ácidos graxos, avaliação da desnaturação protéica, análise de textura e determinação de colágeno, entre outras, o estudo de biomarcadores de crescimento muscular e a análise proteômica da carne vêm se desenvolvendo e colaborando na proposição de novos indicadores de qualidade da carne (BENDIXEN, 2005; MULLEN *et al.*, 2006; HOLLUNG *et al.*, 2007).

#### 3.4.1 pH e Cor

Após o abate do animal, o pH fisiológico começa a diminuir no músculo, devido ao acúmulo de ácido láctico proveniente da glicólise anaeróbica, durante a instalação do *rigor mortis*. O pH final da carne, 24 horas pós abate, é um fator determinante para sua qualidade, uma vez que a condição das proteínas, suas propriedades tecnológicas, como CRA, textura, perda de peso por cozimento, suculência e estabilidade microbiológica, e os pigmentos da carne estão intimamente relacionados à acidez final do produto (QIAO *et al.*, 2001; FLETCHER, 2002).

Baixos valores de pH podem causar desnaturação das proteínas miofibrilares, levando a alterações das propriedades funcionais da carne com redução dos rendimentos dos produtos. Isso acontece porque o pH interfere nas cargas das proteínas miofibrilares, cujo ponto isoelétrico é em torno de 5,0, e valores de pH mais baixos para carnes, tendem a aproximar-se desse valor, resultando na diminuição da quantidade de carga elétrica líquida e do espaçamento entre os miofilamentos, na precipitação de proteínas sarcoplasmáticas e, na diminuição da CRA (BERTRAM; KRISTENSEN; ANDRESEN, 2004). Condições antes do abate, como estresse do animal e período de jejum, podem afetar a velocidade de glicólise, de produção de ácido láctico e de queda de pH (BOND; CAN; WARNER, 2004; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Além da CRA, um importante fator relacionado ao pH da carne é a cor, que segundo Fletcher (1999) é um dos mais importantes atributos na percepção do consumidor quanto à qualidade da carne e seu frescor, pois é uma característica que influencia tanto a escolha inicial do produto como a aceitação no momento do consumo. O efeito do pH sobre a cor da carne, porém, é complexo, uma vez que muitas das reações associadas aos grupamentos heme responsáveis pela cor são pH dependentes e a cor também está sujeita a alterações em virtude das características estruturais da carne e suas propriedades de refletância de luz (OLIVO *et al.*, 2001; FLETCHER, 2002).

A cor observada na superfície da carne é o resultante da absorção seletiva de luz pela mioglobina, o principal pigmento heme muscular, por pigmentos minoritários, como os citocromos, e por outros importantes componentes, como as fibras musculares e suas proteínas, e a água presente na carne (OLIVO *et al.*, 2001; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

Em relação às características de reflexão da luz pelas proteínas e fibras musculares, quanto maior for o grau de desnaturação das proteínas, maior será a birrefringência, ou seja, menor será a quantidade luz transmitida através das fibras e mais luz será refletida, o que leva à aparência pálida da carne (SWATLAND, 2008). McCurdy, Barbut, Quinton (1996) e Barbut (1997) obtiveram em seus resultados correlação entre o valor de  $L^*$  e o valor de capacidade de retenção de água (CRA) da carne (que é diminuída com o aumento da desnaturação proteica), sendo que quanto maior a palidez, menor foi a CRA.

Em relação ao principal pigmento da carne, a molécula de mioglobina é composta por duas porções, uma proteica denominada globina, e por um anel ou grupo heme, não proteico, denominado ferro protoporfirina IX. O estado químico do átomo de ferro na estrutura pode variar, assim como a cor resultante do complexo, no estado intacto, o complexo é vermelho-púrpura e o ferro encontra-se reduzido ( $Fe^{2+}$ , íon ferroso) (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Quando o ferro está presente em estado reduzido, mas ligado a uma molécula de oxigênio, o complexo chama-se oximioglobina e apresenta coloração vermelho brilhante, enquanto que quando o íon está em seu estado oxidado ( $Fe^{3+}$ , férrico), o complexo obtido é a metamioglobina de coloração marrom (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). O processamento térmico e a cura da carne também modificam estruturalmente a mioglobina, que pode adquirir

tonalidades variadas, como a cor rosa e a cor verde (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Um dos problemas encontrados na indústria da carne suína e de frango relacionado com a variação da cor e do pH da carne, refere-se à anomalia PSE (*pale, soft, exudative*). As carnes PSE são decorrentes de uma acelerada glicólise *post mortem*, que ocasiona uma drástica diminuição do pH muscular, abaixo de 5,8, ainda quando a carcaça do animal está quente ( $> 35^{\circ}\text{C}$ ). Como consequência, as proteínas musculares, principalmente as miofibrilares são desnaturadas, ocorrendo assim uma grande perda de água (BENDAL; WISMER-PERDERSEN, 1962; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013), o que torna a superfície da carne pálida, flácida e exsudativa, comprometendo as suas propriedades tecnológicas (BREWER; MCKEITH, 1999; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). A classificação de carnes de frango PSE é feita pela combinação de valores de pH baixo ( $< 5,8$ ) e cor clara ( $L^* > 53,0$ ) da carne (SOARES *et al.*, 2002).

Além do pH, de condições pré-abate e idade do animal, a cor da carne de frango pode ser afetada por condições de processamento, como cozimento, tipo de embalagem, (com ou sem presença de luz, de  $\text{O}_2$ , de aditivos, etc...), adição de substâncias como sal e nitrito, congelamento e refrigeração (LAWRIE, 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

#### 3.4.2 Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A água é o componente majoritário da carne, corresponde a aproximadamente 75% de sua massa, enquanto que os outros quase 25% distribuem-se entre proteínas ( $\pm 20\%$ ), lipídios ( $< 5\%$ ), carboidratos ( $\pm 1\%$ ) e vitaminas e minerais (aproximadamente 1%). A maioria da água na musculatura encontra-se associada às miofibrilas e entre a membrana celular (sarcolema) e as miofibrilas (OFFER; COUSINS, 1992; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). As miofibrilas possuem habilidade em reter a água devido a sua formação tridimensional, e a quantidade de água que pode ser retida é dependente do espaço disponível entre os filamentos (OFFER; TRINICK, 1983; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

A CRA é definida como a capacidade da carne em reter a água contida em sua própria estrutura durante a aplicação de forças externas, mecânicas ou térmicas, como corte, aquecimento, trituração e prensagem (ORDÓÑEZ *et al.*,

2005; ZHANG *et al.*, 2005). Esta é uma propriedade importante para a carne, uma vez que afeta diretamente sua qualidade, positiva ou negativamente, e é um parâmetro tecnológico para a indústria de carnes, pois está relacionada com a perda de peso pós-abate e com a qualidade e rendimento da carne e dos produtos cárneos (BERTRAM; ANDRESEN; KARLSSON, 2001; OLIVO *et al.*, 2001).

A quantidade de água exsudada do produto cárneo, que se acumula na embalagem (podendo afetar sua aparência e aceitação) e a quantidade de água perdida pela carne durante sua cocção (afetando sua suculência e maciez) estão diretamente relacionadas à CRA da carne (BERTRAM; ANDRESEN; KARLSSON, 2001). Uma carne com baixa CRA torna-se um problema ainda maior se for destinada a produtos manufaturados que são submetidos a combinações de aquecimento, moagem e outros processos (KARUNANAYAKA; JAYASENA; JO, 2016).

O segundo componente de maior proporção da carne, a proteína, está intimamente relacionado à CRA, uma vez que as interações proteína-água são responsáveis por manter a água unida à estrutura cárnea. Se as proteínas se mantêm íntegras, elas continuam capazes de reter a água durante a conversão do músculo em carne, enquanto que se elas desnaturam-se, podem perder essa característica (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). Os fatores que mais contribuem para as alterações nas proteínas da carne são o pH, a força iônica e os processos oxidativos, que alteram as estruturas e cargas das proteínas (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

A extensão da queda do pH durante a instalação do *rigor mortis* e sua influência sobre as proteínas (desnaturação proteica) exerce importante influência sobre a CRA. A retenção de água pelas proteínas da carne em pHs mais próximos do ponto isoelétrico é menor, uma vez que as condições de carga e a desnaturação proteica não favorecem a CRA (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). Estudos em filés PSE demonstraram que a CRA desse tipo de carne é menor que a de filés normais, uma vez que tem pH menor e propriedades funcionais alteradas. Carnes PSE não apresentam propriedades tecnológicas interessantes para elaboração de empanados, *nuggets*, embutidos e produtos que dependem de bom fatiamento, pois podem ter menor vida útil, suculência e alterações de textura (BARBUT, 2009; GARCIA *et al.*, 2010).

Para analisar a CRA da carne variados métodos são reportados na literatura, métodos baseados na centrifugação, na perda de água por compressão em

papel-filtro, métodos capilares, por perdas por gotejamento e métodos por perda por cocção são os mais comuns (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

### 3.4.3 Textura

A textura é uma importante característica da carne associada à satisfação do consumidor, avaliando-se a textura, seja pelo tato em um primeiro momento, ou pela mastigação após o seu preparo, o consumidor julga a qualidade do produto adquirido. Carnes de textura mais firme são associadas, por parte dos consumidores, a animais mais velhos, enquanto carnes demasiadamente macias podem ser relacionadas à perda de qualidade do produto (FLETCHER, 2002; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

A textura engloba as propriedades relacionadas à estrutura da carne, como o tamanho e a condição das fibras, que são alteradas com a idade do animal (LAWRIE, 2005; ORDOÑEZ *et al.*, 2005). Exemplo das diferenças estruturais são as texturas da carne bovina e da carne de aves, por possuir feixes de fibra mais finos e baixo desenvolvimento do perimísio, a carne de aves apresenta textura mais fina, enquanto a estrutura da carne bovina é mais grosseira (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

A dureza ou maciez da carne são os atributos da textura que mais afetam o consumidor e são avaliados pelo tato, pela mastigação e pela facilidade que a carne se desintegra na boca. Embora a textura venha sendo estudada a muitos anos e diversos métodos instrumentais tentem reproduzir e correlacionar seus resultados com os dos provadores, ainda é complexa essa correlação e nem sempre satisfatória (LAWRIE, 2005; ORDOÑEZ *et al.*, 2005). Os métodos mais comumente utilizados para mensurar atributos relacionados à textura da carne tem sido a análise de textura por meio de equipamentos analisadores de textura (ou texturômetros), capazes de avaliar parâmetros reológicos da carne e, com correlações menores, a determinação de componentes do tecido conectivo, como o colágeno ou determinação do grau de degradação estrutural do tecido (LAWRIE, 2005; LI *et al.*, 2010).

Diversos fatores podem afetar a maciez da carne, como a idade do animal, as condições do animal pré-abate (alimentação, estresse, etc...) e pós-abate (maturação, encurtamento pelo frio, etc...). O grau de maciez, do ponto de vista estrutural da carne, pode relacionar-se a três categorias de proteínas musculares: as do tecido conjuntivo (colágeno, elastina, etc...), as miofibrilares (actina, miosina,

tropomiosina, etc...) e as sarcoplasmáticas (gliceraldeído fosfato desidrogenase, receptor rianodina, receptor di-hidropiridina, etc...) (LAWRIE, 2005; LI *et al*, 2010; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Em geral, o processo de amaciamento da carne começa após a instalação do *rigor mortis*, pela ação de enzimas endógenas sobre as proteínas musculares, especialmente pela ação de calpaínas e catepsinas sobre proteínas miofibrilares, atuando na degradação da linha Z. A ação dessas proteases se dá em diferentes pontos das proteínas e são pH dependentes (WILHELM *et al.*, 2010; LIAN; WANG; LIU, 2013; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Quando a dureza da carne está relacionada à idade avançada do animal, o amaciamento é mais difícil e os processos de cocção e maturação não são capazes de reverter eficientemente essa condição. Isso acontece porque com o avanço da idade do animal, ocorre o aumento da formação de ligações cruzadas de colágeno, as piridinolinas (CORÓ, YOUSSEF, SHIMOKOMAKI, 2003; LAWRIE, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Em seus estudos, Coró, Youssef e Shimokomaki (2003), constataram que a quantidade de colágeno não interfere na força de cisalhamento da carne, mas sim a concentração de piridinolina. Quanto maior a concentração de piridinolinas, menor foi a solubilidade do colágeno e maior a força necessária para o corte da carne. O crescimento rápido das aves, mesmo com maior síntese de colágeno, resultou em uma carne mais macia.

### 3.5 MIOPATIA SPAGHETTI MEAT

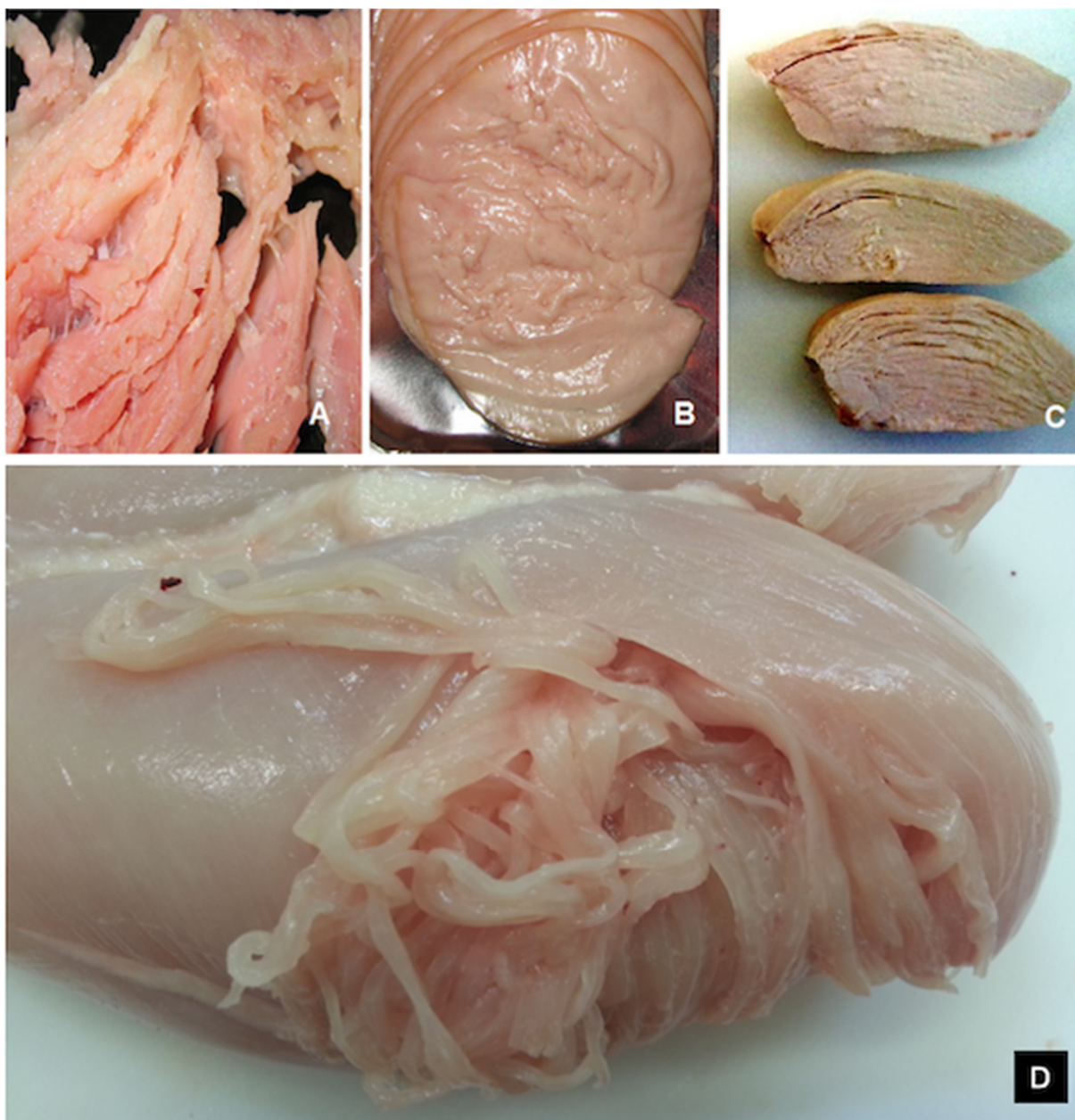
Constantemente a indústria de carnes tem buscado aumentar a eficiência de produção, seja pelo aumento de rendimento da carcaça ou por aceleração do crescimento das aves (VELLEMAN *et al.*, 2003; VOUTILA *et al.*, 2009; ZAPATA *et al.*, 2012). A cada ano, pesquisas vêm colaborando para melhores taxas de conversão alimentar, de modo que um frango de corte pode chegar a 1,9 kg em apenas 35 dias (KOIYAMA *et al.*, 2014), porém, os problemas associados à seleção genética também aumentaram, como as miopatias WS e WB (KUTTAPPAN *et al.*, 2013; PETRACCI *et al.*, 2014; VELLEMAN; CLARK, 2015; SOGLIA *et al.*, 2016).

A miopatia WS caracteriza-se pelo aparecimento de estrias brancas no sentido da fibra muscular, principalmente na superfície do peito de frango, e tem sua etiologia ainda desconhecida. Enquanto que a miopatia WB, caracteriza-se pelo

aparecimento de regiões endurecidas no peito de frango, sentidas pelo tato, e por isso recebe o nome de “peito amadeirado” e assim como a miopatia *white striping*, essa anomalia não tem sua etiologia conhecida. Ambas as anomalias são associadas ao crescimento rápido dos frangos de corte (KUTTAPPAN; HARGIS; OWENS, 2016). Dransfield e Sosnicki (1999) e Voutila *et al.* (2009) ressaltam que durante o desenvolvimento das aves, os efeitos colaterais provocados pela seleção genética e o conteúdo e solubilidade do colágeno não foram monitorados e podem estar relacionados às alterações na qualidade das carnes.

Outra anomalia que tem acometido filés de frango é a miopatia *Spaghetti meat*, caracterizada por alterações estruturais no tecido conjuntivo intramuscular do peito de frango, que apresenta aspecto fragmentado das fibras, parecendo-se com macarrão espaguete, por isso o nome “carne espaguete”. A carne do filé SM apresenta baixa coesão entre as fibras, que podem ser desintegradas pela pressão dos dedos, e quando cozidas, as carnes apresentam fibras separadas e estrutura fragmentada (PETRACCI; CAVANI, 2012; BALDI *et al.*, 2019). Essa miopatia, além de acometer a carne de frango pode ser observada também em carnes suína e de peru (VOUTILA *et al.*, 2009). Não há estimativas de valores relacionados às perdas econômicas relacionadas aos filés SM ou estimativas de sua incidência. A Figura 6 ilustra carnes suína e de peru cruas e carne de frango crua e cozida acometidas pela miopatia SM.

**Figura 6** – Carnes acometidas pela miopatia *Spaghetti meat*: carne suína (A) e de peru (B) *in natura*, carne de frango cozida (C) e carne de frango *in natura* (D)



**Fonte:** (A) e (B) adaptadas de Voutila *et al.* (2009), (C) de Petracci e Cavani (2012) e (D) Bilgili (2015).

Rutz *et al.* (2017) e Petracci e Cavani (2012) revisaram na literatura a anormalidade SM e relatam que, embora a causa seja desconhecida, a principal teoria para explicar o problema da baixa coesão da carne seria a idade de abate precoce de frangos e de perus, relacionando-a à imaturidade do tecido conjuntivo intramuscular.

Estudos mais recentes, têm encontrado alterações comuns na composição química dos filés de peito SM, como maior teor de umidade e menores teores de cinzas e proteínas que filés Normais (BALDI *et al.*, 2018; TASONIERO *et al.* 2020), porém, em virtude das variações de linhagens, sexo e sistema de criação dos animais, resultados como estes não são unanimidade (BALDI *et al.*, 2019). O menor

teor de proteínas tem sido a característica mais recorrente.

Os filés SM também têm sido reportados como mais pesados e mais amarelados (maior valor de  $b^*$ ) na região superficial (BALDI *et al.*, 2018; TASONIERO *et al.* 2020). A cor mais amarelada tem sido correlacionada a infiltrados inflamatórios observados em análises histológicas (BALDI *et al.*, 2018; TASONIERO *et al.* 2020). Análises histológicas também indicam haver problemas em filés SM com os tecidos conectivos que circundam as fibras, o endomísio e o perimísio. Baldi *et al.* (2018) observaram que além da baixa uniformidade de tamanho das fibras, há extensivo comprometimento do endomísio e perimísio, presentes em pouca quantidade ao redor das fibras.

Baldi *et al.* (2019) avaliaram a capacidade de formação de emulsão de filés SM e encontraram resultados similares aos de filés Normais, porém, a capacidade de manter a emulsão foi menor nos filés com miopatia. Na literatura não foram encontrados resultados para aplicações de filés SM em produtos cárneos e, uma vez que a elaboração de produtos processados emprega ingredientes que podem colaborar para melhorar as características da carne, a utilização dos filés SM em produtos emulsionados ou com maior valor agregado pode ser uma alternativa viável de emprego, visando a redução de perdas econômicas.

### 3.6 SALSICHA

A salsicha é definida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como:

“[...] o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado” (BRASIL, 2000).

O regulamento técnico de identidade e qualidade de salsicha permite a adição de amido e proteínas não cárnicas nas quantidades máximas de 2 e 4%, respectivamente. Além disso, em sua composição as salsichas devem conter no máximo 7% de carboidratos totais, 65% de umidade e 30% de gordura, e um mínimo de 12% de proteínas (BRASIL, 2000).

O custo mais reduzido da maioria das matérias-primas envolvidas no processo de produção da salsicha (CMS, miúdos, etc...) faz com que seu preço final seja mais acessível (GUERREIRO, 2006). No ano de 2019, o corte inteiro de frango, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020) sofreu aumento acumulado de 12,01% no ano, enquanto que a salsicha aumentou apenas 2,77%, sendo uma proteína alternativa de baixo custo à população de menor renda, não deixando de ser apreciada pelo restante da população, principalmente por conta do consumo do popular cachorro-quente e da facilidade de preparo do produto (GUERREIRO, 2006; IBGE, 2020).

A salsicha de carne de ave, comercialmente chamada de salsicha de frango, é caracterizada pela Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000, e em sua composição além da carne de ave e condimentos, podem ser empregados CMS de ave (no máximo de 40%), miúdos comestíveis de ave e gorduras (BRASIL, 2000).

Para elaboração da salsicha, a carne é triturada com os ingredientes de forma a obter uma massa homogênea, conhecida como *batter* ou emulsão cárnea. Emulsões são suspensões coloidais de dois líquidos imiscíveis que se mantêm dispersos um no outro, através da ação de um agente emulsionante interfacial. A emulsão cárnea, porém, é complexa, por não conter apenas água, óleo e agentes emulsificantes, nela, a fase dispersa é constituída por partículas de gordura, fibras musculares e aditivos, enquanto a fase contínua é constituída por água, sal, proteínas hidrossolúveis, fragmentos de colágeno e segmentos de fibras (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

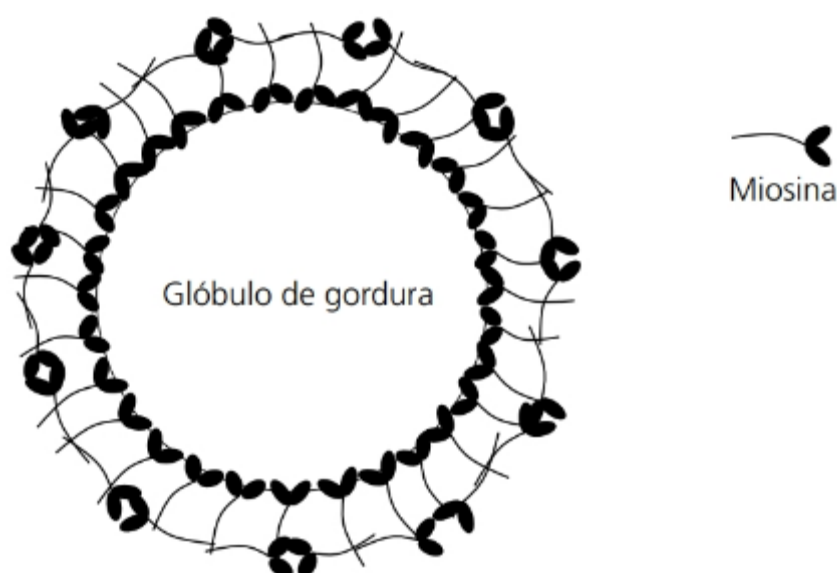
Para a formação da emulsão cárnea, durante o processo de trituração da carne com os ingredientes, é necessário que ocorra o rompimento da estrutura de fibras para que as proteínas fiquem mais expostas e interajam com os ingredientes, que exercem importante papel no processo. É nesse processo que ocorre a solubilização das proteínas miofibrilares, que são solúveis em soluções salinas e interagem com os sais adicionados para a formação de um filme proteico na interface entre a fração aquosa e a fração lipídica (GUERREIRO, 2006; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Os principais sais adicionados são o cloreto de sódio, os sais de cura (nitrito e nitrato de sódio), e os estabilizantes polifosfatos. Os sais, além de conferirem cor e sabor ao alimento, atuam elevando a força iônica do meio, aumentam a solubilização das proteínas miosina e actina, aumentam o espaçamento entre as

estruturas proteicas em virtude de suas cargas e ainda favorecem o aumento da capacidade de retenção de água do produto cárneo, que conseqüentemente colabora para a textura e suculência. No caso específico dos polifosfatos, eles ainda colaboram para a manutenção do pH do meio em virtude de sua capacidade tamponante, o que é importante, uma vez que se ocorrer a redução do pH, pode haver comprometimento da capacidade de retenção de água da salsicha, em virtude da aproximação do ponto isoeletrico das proteínas (~5,5) (OFFER *et al.*, 1989, GUERREIRO, 2006).

Do ponto de vista proteico, a miosina é a proteína que mais colabora para a formação e estabilização da emulsão cárnea, seguida pela actina, em virtude de suas características de tamanho, sequência de aminoácidos, composição e flexibilidade. A miosina faz ligação entre a interface óleo-água, por meio de interações entre sua cauda apolar e a fração lipídica, enquanto que a porção polar se associa a fração aquosa (FOEGEDING; BREKKE; XIONG, 1991; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). A representação esquemática da estabilização de um glóbulo de gordura de emulsão cárnea pela miosina pode ser observada na Figura 7, destaca-se que a emulsão cárnea é muito mais complexa e composta por inúmeros outros componentes (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

**Figura 7** – Representação esquemática de um glóbulo de emulsão de carne representando uma monocamada de miosina



Fonte: STRASBURG; XIONG; CHIANG (2010).

Após a trituração e homogeneização da massa cárnea para formação da emulsão, a salsicha é embutida e cozida para que ocorra o processo de gelificação

do produto. Nesse processo, o aumento da temperatura atua na desnaturação das proteínas e desencadeia a formação de uma estrutura de rede (gel) formada principalmente pelas interações eletrostáticas, hidrofóbicas e pontes de hidrogênio entre as proteínas. A estrutura torna-se mais coesa e firme após a gelificação e ocorre a imobilização das moléculas de gordura e água na matriz cárnea, o que também garante maior estabilidade a salsicha (ACTON *et al.*, 1982; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

O resfriamento, a retirada da tripa utilizada para embutimento da salsicha e a embalagem do produto são os processos finais para a obtenção da salsicha de frango, que não passa por processo de tingimento com a salsicha convencional. Nesta etapa, eventuais problemas durante o processo de formação da emulsão podem ser observados, pela formação de bolsões de gordura que não permaneceram na emulsão (GUERREIRO, 2006). Alguns fatores que podem comprometer a estabilidade da emulsão são a temperatura durante a trituração e a duração desse processo, quantidade de sal adicionada, o tipo e o tamanho das gotículas de gordura e pH da carne (ACTON *et al.*, 1982).

### 3.7 FILÉ DE FRANGO MARINADO COZIDO E DESFIADO

A busca do consumidor por alimentos mais práticos e fáceis de preparar tem aumentado a demanda por produtos congelados, que só precisam ser aquecidos para ficarem prontos, como pizzas, lasanhas, vegetais e inclusive preparados a base de carne congelados. O filé de frango marinado cozido e desfiado é um destes alimentos que se enquadra na categoria *ready-to-eat food* (alimento pronto para comer) (KIELING; DELARCO; PRUDÊNCIO, 2019).

O filé de frango cozido, temperado e desfiado comercializado congelado, além da praticidade conserva melhor a umidade da carne devido aos sais adicionados durante a marinação, e pode ser preservado por mais tempo por ser congelado, levar adição de antioxidantes e de já estar cozido sob condições controladas, que garantem maior estabilidade físico-química, formação de compostos de Maillard que conferem sabores e aromas agradáveis, além de inibir o desenvolvimento microbiológico (BARBANTI; PASQUINI 2005; MIR *et al.*, 2017). A marinação, além de conferir sabor agradável ao produto cárneo e diminuir as perdas de massa durante a cocção, aumenta a suculência e maciez da carne e agrega valor

ao produto, gerando lucros (LEMOS; NUNES, VIANA, 1999; SMITH; ACTON, 2010).

O processo de marinação é realizado há séculos em carnes, seja para agregar sabores desejáveis e preservar por mais tempo a carne ou para mascarar sabores desagradáveis. Ela consiste na adição de líquidos à carne antes do processo de cocção e pode, além de melhorar o sabor e aroma, reduzir perdas e alterar as características de textura (SMITH; ACTON, 2010).

O método de imersão da carne em uma salmoura contendo sais e condimentos é o mais antigo e realizado inclusive pelo consumidor em geral. Neste processo, a absorção da salmoura pela carne ocorre de maneira passiva e a quantidade de solução absorvida depende do tempo e da concentração de sais na solução empregada (LEMOS; NUNES, VIANA, 1999; SMITH; ACTON, 2010). A injeção de salmoura por meio de agulhas é um método mais ativo de incorporação de líquidos na carne, além de garantir melhor distribuição do tempero. O método de injeção pode ser realizado na linha de produção e é o mais utilizado na indústria para marinação de aves e cortes com ossos (SMITH; ACTON, 2010).

O método de marinação por tambaleamento, ou massageamento, pode ser combinado com os métodos de imersão e injeção para potencializar a absorção da salmoura pela carne. No tambaleamento, a carne com salmoura injetada ou imergida é colocada em um tambor rotativo que pode funcionar com ou sem vácuo e em diferentes velocidades de rotação. Neste processo, o emprego de tanques encamisados ou com injeção de dióxido de carbono favorecem o controle de temperatura e a energia mecânica envolvida no impacto da carne com a parede do tanque faz com que em torno de 20 minutos obtenha-se uma marinação eficiente e uma carne mais macia (SMITH; ACTON, 2010).

Um aspecto negativo associado ao processo de marinação é o risco de contaminação microbiológica, uma vez que tanto a salmoura por imersão, quanto a por injeção pode disseminar os microrganismos por todo um lote processado, se os devidos cuidados não forem tomados. O processo de cocção de produtos marinados e cozidos, entretanto, pode sanar em partes esse risco (SMITH; ACTON, 2010).

O cozimento da carne, embora provoque a redução de nutrientes devido a temperatura, provoca reações químicas que favorecem a formação de aromas e sabores desejáveis, minimiza os riscos associados aos microrganismos e aumenta a maciez da carne. O processo de amaciamento ocorre devido a três principais fatores: o derretimento da gordura pelo calor no interior do corte, o que

também aumenta a suculência da carne (os filés de frango por possuírem baixo teor de gordura não são muito favorecidos por esse fator), a dissolução de parte do colágeno em gelatina solúvel e a separação das fibras que se tornam menos resistentes ao corte (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Por ser cozido e marinado, o filé de frango desfiado congelado, além de conferir praticidade ao consumidor, possui as qualidades advindas da cocção e da marinação e agrega valor ao produto. Em virtude das características estruturais de filés SM, que parecem desfiar-se naturalmente, o filé de frango marinado cozido e desfiado pode ser uma opção de produto interessante para o destino de carnes com a miopatia SM. Não foram encontrados estudos na literatura empregando-se filés SM na elaboração de filés de frango marinado cozido e desfiado e por esse motivo esse produto é objeto de estudo dessa pesquisa.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

A coleta de amostras foi realizada em uma linha comercial de abate localizada no estado do Paraná. Um *pool* de aves de linhagens Ross 308 AP e Cobb 500 Slow, de sexagem mista foram abatidas seguindo as práticas comerciais de insensibilização elétrica, sangria, escaldagem, depenagem, evisceração e chiller.

A pesquisa foi avaliada e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (n° 22295.2017.93) (Anexo A)

Ao todo, em diferentes coletas e lotes, aproximadamente 200 filés foram selecionados e coletados após separação mecânica da carcaça. A classificação dos filés foi realizada por dois especialistas treinados, que validavam a classificação, baseando-se na avaliação visual, àqueles que possuíam a presença de fibras enfraquecidas e/ou soltas foram classificados como SM e àqueles sem presença de fibras enfraquecidas e/ou soltas como Normal.

Os filés foram acondicionados em sacos de polietileno e armazenados a 4 °C por 24 h até a elaboração dos produtos ou para avaliação de pH, cor (L\*, a\*, b\*), capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento, desnaturação proteica e capacidade de emulsificação. Para as análises de composição centesimal e teor de colágeno (total e solúvel) as amostras foram armazenadas a -18°C até o momento das análises. As amostras utilizadas para avaliação histológica foram coletadas, armazenadas em gelo durante o transporte e em aproximadamente 6 horas, cortadas e colocadas em solução de formalina 10%.

Os filés analisados no primeiro artigo foram provenientes de aves com 49 dias de idade e peso médio de 3,10 kg. Para elaboração das salsichas, a idade média das aves foi de 46 dias e peso médio de 3,23 kg, enquanto que para elaboração dos filés de frango marinados cozidos e desfiados a idade média das aves foi de 47 dias e peso médio de 3,30 kg.

A CMS utilizada na elaboração da salsicha foi doada pelo frigorífico, a tripa de celulose foi doada por uma professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, a pele de frango e os aditivos foram adquiridos no comércio local.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Caracterização dos Filés de Frango

##### 4.2.1.1 Medida de pH

As medidas de pH foram realizadas em duplicata 24 h *post mortem*, na parte cranial ventral dos filés utilizando-se um potenciômetro com eletrodo de inserção (Testo 205), conforme descrito por Boulianne e King (1995) e adaptado por Olivo *et al.* (2001).

##### 4.2.1.2 Medida de cor

As medidas de cor foram realizadas em triplicata 24 h *post mortem*, na face ventral dos filés, tomando-se três pontos diferentes de leitura por amostra (SOARES *et al.*, 2002), utilizando-se um colorímetro da marca Minolta modelo CR-400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°. Os parâmetros de cor determinados foram L\*, a\* e b\*, de acordo com o sistema CIELab.

##### 4.2.1.3 Capacidade de retenção de água (CRA)

A determinação da CRA foi realizada 24 h *post mortem* em duplicata, conforme procedimento descrito por Hamm (1961). Filés de frango foram cortados em cubos, com massa inicial de 2,0 g, e posicionados entre dois papéis filtro e duas placas de acrílico. Este sistema foi deixado sob uma peça de 10 kg por 5 minutos. A carne foi novamente pesada e a porcentagem de CRA foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$\% \text{ de CRA} = 100 - \left\{ \frac{\text{massa inicial} - \text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100 \right\}$$

##### 4.2.1.4 Perda de peso por cozimento (PPC)

A PPC foi determinada 24 h *post mortem*, segundo metodologia descrita por Honikel (1998). As amostras foram pesadas, acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados e cozidas em banho-maria a 80°C até que a

temperatura interna atingisse 75°C. Após o cozimento, a água exsudada foi desprezada e, após serem resfriadas a temperatura ambiente, as amostras foram novamente pesadas. O resultado foi expresso em porcentagem de água perdida, considerando-se as massas inicial e final da amostra.

#### 4.2.1.5 Força de cisalhamento

A medida de força de cisalhamento das amostras cruas foi realizada em filés refrigerados. Para medida de força de cisalhamento das amostras cozidas foram utilizadas as mesmas amostras da análise de PPC, segundo as instruções de Bratzler (1949). As amostras foram cortadas, em quintuplicata, no sentido da fibra da carne em pedaços de 1 x 1 x 2 cm (altura, largura, comprimento) e submetidas ao teste de cisalhamento com a lâmina Warner Bratzler (WB) com velocidade 5 mm s<sup>-1</sup>, acoplada ao texturômetro TA-XT<sub>2i</sub>. Os resultados foram expressos em Newton correspondente à força máxima necessária para o corte transversal das fibras.

#### 4.2.1.6 Capacidade de emulsificação

Para determinar a capacidade de emulsificação dos filés, 5,0 g de amostra foram adicionados a 30,0 mL de solução salina (NaCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, 10°C). A mistura foi mantida sob agitação por 2 minutos e deixada descansar por 1 minuto. Em seguida, foi feita a adição de óleo de soja sob agitação até atingir o ponto de inversão (quebra) da emulsão, determinada visualmente por mudança brusca na consistência da emulsão. A capacidade de emulsificação foi expressa em mL de óleo adicionado até a inversão da emulsão por 100 mg de proteína, conforme método de De Kanterewicz *et al.* (1987).

#### 4.2.1.7 Avaliação histopatológica

Foram coletadas 10 amostras SM e 10 amostras Normais para análise histopatológica 6 horas após coleta em frigorífico. As peças de frango foram seccionadas em cortes longitudinais e transversais, totalizando 40 cortes avaliados. Todos os fragmentos dos músculos do peito de frango foram imersos em solução tamponada de formalina a 10% por 24 h. Em seguida, foram realizadas as etapas de

desidratação das amostras, colocando-as em concentrações crescentes de etanol, diafanização em xilol, e inclusão em parafina. As amostras foram cortadas em micrótomo com espessura de 5 µm e processadas para avaliação histopatológica com hematoxilina e eosina (H&E) e coloração com tricrômico de Masson. As leituras foram realizadas em microscópio óptico com lente objetiva de 40x em 10 campos de observação por corte.

#### 4.2.1.8 Desnaturação proteica

A medida de desnaturação das proteínas solúveis dos filés de frango foi realizada em triplicata, seguindo a metodologia descrita por Swatland (1995). Inicialmente, 5,0 g de amostra foram homogeneizados com 15,0 mL de água destilada e centrifugados a 10.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro e 1,0 mL foi transferido para um tubo com tampa contendo 5,0 mL de tampão citrato-fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> pH 4,6. O branco foi preparado com 1,0 mL do filtrado e 5,0 mL de água destilada. Posteriormente, a transmitância da amostra foi lida a 600 nm em espectrofotômetro. A desnaturação proteica foi expressa como a porcentagem da transmitância obtida.

#### 4.2.1.9 Composição química aproximada

A composição química aproximada foi realizada conforme metodologias descritas na A.O.A.C. (1990). A umidade por secagem em estufa a 105 °C até peso constante. As cinzas por incineração em mufla a 550 °C. O teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando o fator de conversão em proteína de 6,25. A fração lipídica foi extraída em Soxhlet com éter de petróleo, após hidrólise ácida (BRIDI; SILVA, 2009).

#### 4.2.1.10 Teor de colágeno

##### 4.2.1.10.1 Teor total de colágeno (TC)

Para determinação do teor total de colágeno por grama de amostra, inicialmente foi realizada hidrólise de 15 h de 1,0 g de filé em 15 mL de HCl 6 mol L<sup>-1</sup>

a 105 °C, segundo procedimento de Woessner Jr (1961). O hidrolisado foi filtrado e o pH ajustado entre 6,0 e 7,0 com 33% (m/v) de NaOH, e diluído com água destilada para 250 mL. Em seguida, 2,0 mL de amostra hidrolisada foram tomados e realizou-se o procedimento descrito por Woessner Jr (1961). A quantidade de hidroxiprolina foi determinada a partir de uma curva padrão e o conteúdo de colágeno foi calculado multiplicando-se o valor obtido por 8,0 (WOESSNER JR, 1961).

#### *4.2.1.10.2 Teor de colágeno solúvel (SC)*

O colágeno solúvel foi extraído de acordo com o método modificado de Penfield e Meyer (1975). Uma massa de 2,5 g de amostra foi homogeneizada por 1 minuto com 20 mL de água deionizada e aquecida durante 60 minutos a 80°C. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas a 22000 g, em Ultra Turrax e centrifugadas durante 15 minutos a 4000 g. O sobrenadante foi filtrado e 30 mL de 6 mol L<sup>-1</sup> de HCl foi adicionado para a hidrólise e posterior quantificação do colágeno conforme procedimento realizado na determinação do teor de colágeno total das amostras (WOESSNER JR, 1961).

#### *4.2.1.10.3 Comparação estimada do teor de piridinolinas*

Para extração do colágeno, o método foi adaptado e 10 g de amostra triturada foram transferidos para um erlenmeyer recoberto com papel alumínio contendo 200 mL de KCl 0,6 mol L<sup>-1</sup> e mantidos sob agitação por 24 h a 4 °C. As amostras foram então centrifugadas a 10000 rpm por 25 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C. O precipitado obtido foi deixado em água sob refrigeração (4 °C) por 24 h. Posteriormente, foi lavado com 50 mL de água gelada (4 °C), homogeneizado, novamente centrifugado e a água foi descartada, repetindo-se esse processo por 6 vezes (LIRA; SHIMOKOMAKI; GIOIELLI, 1999). O precipitado resultante foi congelado e liofilizado por 36 h.

Foram tomados 100 mg do material liofilizado em um tubo de rosca com tampa ao qual foi adicionado 1,0 mL de HCl 6 mol L<sup>-1</sup> e colocado em estufa a 105°C por 24 horas para hidrólise (EYRE; KOOB; VAN NESS, 1984).

Após a hidrólise da amostra, foram adicionados ao tubo de rosca 0,5 mL de solução de celulose, 0,5 mL de ácido acético e 2 mL de 1-butanol. A mistura foi

homogeneizada e vertida na coluna preparada de acordo com Skinner (1982). O frasco foi lavado com 1,5 mL de fase móvel e o conteúdo foi novamente vertido na coluna. A coluna foi lavada três vezes com alíquotas de 5,0 mL de fase móvel. Para extrair as piridinolinas retidas na celulose, 5,0 mL de água ultrapura foram passados pela coluna e coletados para posterior centrifugação a 3000 g por 8 minutos, em centrífuga refrigerada a 4°C. Após a centrifugação a fase sobrenadante foi descartada e o restante foi congelado e liofilizado por 24 h para análise estimada das piridinolinas (SKINNER, 1982; AVERY *et al.*, 1996)

As amostras liofilizadas foram ressuspensas em 1,0 mL de ácido acético 20% (v/v) para posterior leitura em espectrofluorímetro. A detecção da intensidade de fluorescência (em “contagem”/counts, unidade arbitrária reportada pelo equipamento) foi determinada utilizando-se a excitação em 297 nm e emissão em 380 nm (EYRE, 1987). O método é comparativo, uma vez que não foi utilizado padrão de piridinolina como referência, porém, estima-se que a fração de piridinolinas seja majoritária, ou única, uma vez que o preparo de amostra favorece o isolamento deste componente da matriz. Os valores obtidos foram reportados como unidades de counts por mg de colágeno insolúvel em 1,0 g de massa seca.

Os espectros de absorção e emissão de fluorescência foram obtidos para todas as amostras para garantia de comparabilidade. Além disso, Zhang *et al.* (2009) argumentam que os resíduos de triptofano, possíveis interferentes, emitem luz em 340 nm, não interferindo nos comprimentos de onda usados nesta análise. A leitura de cada amostra foi realizada em quintuplicata e ácido acético 20% (v/v) foi utilizado como branco.

#### 4.2.1.11 Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste *t* de *Student* a 5% de probabilidade para comparação entre os filés Normais e SM utilizando o programa *Statistica 7.0 for Windows*.

### 4.2.2 Elaboração e Caracterização de Salsichas de Frango

#### 4.2.2.1 Elaboração das salsichas de frango

Foram elaboradas duas formulações de salsicha de carne de frango, diferindo apenas no tipo de filé de frango empregado: filé Normal e filé SM. A formulação utilizada está apresentada na Tabela 1 e seguiu as recomendações do regulamento técnico de identidade e qualidade de salsicha (BRASIL, 2000).

**Tabela 1** – Formulação da salsicha de carne de frango

<b>Ingredientes</b>	<b>g/100 de produto</b>
Filé de peito de frango	40,00
Carne mecanicamente separada (CMS)	30,20
Pele de frango	10,00
Gelo	10,00
Proteína isolada de soja	2,82
Fécula de mandioca	2,00
Sal	1,70
Condimento para salsicha	1,00
Tripolifosfato de sódio	0,50
Açúcar	0,50
Lactato de sódio	0,40
Glutamato monossódico	0,30
Eritorbato de sódio	0,30
Sais de cura	0,25
Aroma de fumaça líquida	0,03
Corante Carmim 3%	20 µL

Inicialmente, foi realizada a trituração e homogeneização da carne de frango congelada e em seguida, foram adicionados os ingredientes em um processador de alimentos (Philco Maxxi 800W) na seguinte ordem: tripolifosfato de sódio, gelo, CMS, sais de cura, sal, pele de frango previamente triturada, condimento para salsicha, glutamato monossódico, aroma de fumaça líquida, açúcar e proteína isolada de soja. Posteriormente, foram acrescentados o eritorbato de sódio, o corante carmim 3% (SBR Foods Ltda), o lactato de sódio e a fécula de mandioca até a completa homogeneização da massa.

A massa cárnea foi então embutida em tripa de colágeno, cozida em banho-maria fervente até que a temperatura interna da salsicha atingisse 72°C e resfriada em banho de gelo até que temperatura interna da salsicha atingisse 10°C. As tripas foram retiradas após o processo de resfriamento e as salsichas foram embaladas à vácuo (Embaladora Sulpak Supervac) e armazenadas a 4 °C por 90 dias. As salsichas foram avaliadas nos tempos de 2, 15, 60 e 90 dias.

#### 4.2.2.2 Medida de cor

As medidas de cor foram realizadas em sextuplicata em diferentes superfícies dos cortes da região interna das salsichas, de acordo com o item 4.2.1.2.

#### 4.2.2.3 Determinação da atividade de água ( $a_w$ )

A determinação da atividade de foi realizada pelo método de ponto de orvalho no equipamento Aqualab Dew Point 4TEV.

#### 4.2.2.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

A medida de capacidade de retenção de água foi realizada segundo proposto por Troy, Desmond e Buckley (1999), e o valor foi expresso em percentagem como descrito no item 4.2.1.3.

#### 4.2.2.5 Análise de perfil de textura (TPA)

Para análise de perfil de textura foi utilizado o Texturômetro Universal TTXA2i com probe P25. As amostras de salsicha foram cortadas em círculos com 2,0 cm de diâmetro e 2,0 cm de altura e foram submetidas a duas compressões consecutivas, em 30% da sua altura original, usando velocidade de 2 mm s<sup>-1</sup> com força de 0,98 N. Foram avaliados os parâmetros de dureza (N), mastigabilidade (N), coesividade, e elasticidade.

#### 4.2.2.6 Análise de oxidação lipídica – teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

A extração das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Mendes, Cardoso e Pestana (2009), com adaptações. Porções de 10,00 g de amostra foram transferidas para tubos de polietileno de 50 mL e adicionadas de 15,00 mL de solução TCA 7,5% ( $m v^{-1}$ ). Cada mistura foi homogeneizada em turrax por 1 minuto (7000 rpm), centrifugada por 10 minutos (6000 rpm, 20 °C) e filtrada em papel filtro.

O extrato coletado foi utilizado para reação de derivatização com ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) seguindo o método proposto por Tarladgis *et al.* (1960). No qual, 5,00 mL de solução de TBA 20,0 mmol L<sup>-1</sup> foram adicionados a 5,00 mL do extrato, homogeneizados vigorosamente em vórtex e colocados em banho-maria fervente por 35 minutos. Após o resfriamento, a absorbância foi lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 532 nm. Foi construída uma curva padrão com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) de  $8,0 \times 10^{-11}$  a  $2,0 \times 10^{-9}$  mol mL<sup>-1</sup>, e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído kg<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.2.2.7 Composição química aproximada

A composição química aproximada foi realizada conforme item 4.2.1.9 e o teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre a soma dos outros componentes.

#### 4.2.2.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste *t* de *Student* a 5% de probabilidade para comparação entre as salsichas elaboradas com filés Normais e filés SM, e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de médias de *Tukey*, a 5% de probabilidade para comparação durante o tempo de armazenamento. O programa utilizando foi o *Statistica 7.0 for Windows*.

### 4.2.3 Elaboração e Caracterização de Filé de Frango Marinado Cozido e Desfiado

#### 4.2.3.1 Elaboração do filé de frango marinado cozido e desfiado

Foram elaboradas duas formulações de filés de frango marinado cozido e desfiado, diferindo apenas no tipo de filé de frango empregado: filé Normal e filé SM. Inicialmente os filés foram pesados, acondicionados individualmente em embalagem de polietileno e em seguida foi aplicada salmoura, por injeção, ao longo de toda a extensão da carne, respeitando-se o limite de 20% da massa total do filé. A salmoura empregada continha 89,0% de água, 8,0% de cloreto de sódio, 2,0% de tripolifosfato de sódio, 0,5% de glutamato monossódico e 0,5% de eritorbato de sódio.

As embalagens foram seladas com os filés e a solução de salmoura que não foi absorvida, que foram deixados descansar por 30 minutos a 4 °C e em seguida levados a banho-maria a 85 °C por 40 minutos, garantindo-se que a temperatura interna atingisse 75 °C. Posteriormente, a carne foi acondicionada a 4°C até o resfriamento, o líquido excedente foi escorrido e então desfiada, em porções de aproximadamente 3 filés, em batedeira planetária (Arno Deluxe) utilizando-se batedor do tipo pá em velocidade 4 durante 2 a 3 minutos, até que a porção ficasse homogeneamente desfiada.

Após desfiadas, as porções foram reunidas, homogeneizadas, fracionadas e acondicionadas em embalagens de polietileno de aproximadamente 100g e armazenadas a -18 °C até 24 h antes das análises, que ocorreram 2, 15, 45 e 60 dias após a elaboração do produto. Nas 24 h antecedentes a análise, as amostras foram acondicionadas a 4 °C para descongelamento, exceto as amostras para análise de aroma de requeitado, que foram retiradas com antecedência de 48 h.

#### 4.2.3.2 Medida de cor

As medidas de cor foram realizadas em porções de frango desfiado acondicionadas em cápsulas de amostra circulares de 15 mL de capacidade, conforme descrito no item 4.2.1.2.

#### 4.2.3.3 Determinação da atividade de água ( $a_w$ )

A determinação da atividade de água foi realizada como descrito no item 4.2.2.3.

#### 4.2.3.4 Perda de peso por descongelamento (PPD)

A perda de peso por descongelamento foi realizada como reportado por Oliveira *et al.* (2015). Aproximadamente 10 g de amostra foram pesados e congelados em embalagem de polietileno a -18 °C. Nos tempos de análise de 13, 43 e 58 dias após elaboração do produto, as amostras foram armazenadas a 4 °C por 48 h para descongelamento, e em seguida pesadas. A PPD foi expressa em porcentagem.

#### 4.2.3.5 Análise de oxidação lipídica – teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

A extração das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico foi realizada conforme procedimento descrito por Tarladgis *et al.* (1960). Neste procedimento, 10 g de amostra foram adicionados a um erlenmeyer com 98 mL de água destilada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4,0 mol L<sup>-1</sup>, 2 gotas de anti-espumante e algumas pérolas de vidro. Esta solução foi destilada por aproximadamente 10 minutos e 50 mL de destilado foram coletados.

O extrato foi analisado como descrito no item 4.2.2.6.

#### 4.2.3.6 Aroma de requentado (WOF)

A determinação do aroma de requentado foi realizada com adaptações no procedimento descrito por Igene e Pearson (1979). As amostras, que já eram cozidas, foram retiradas do freezer e armazenadas a 4 °C por 48 h e reaquecidas em banho-maria a 85 °C por 6 minutos. Em seguida foi realizada a extração das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, conforme procedimento descrito no item anterior, 4.2.3.5.

#### 4.2.3.7 Composição química aproximada

A composição química aproximada foi realizada conforme item 4.2.1.9

#### 4.2.3.8 Análise estatística

Os resultados foram analisados conforme descrito no item 4.2.2.8.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados no formato de dois artigos científicos, contemplados nos dois próximos tópicos.

### 5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1 - BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGICAL, TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF BROILER BREAST WITH THE EMERGING ABNORMALITY *SPAGHETTI MEAT*

A formatação do seguinte artigo encontra-se de acordo com as normas da revista científica "Food Chemistry".

1 **Biochemical, histopathological, technological, and functional parameters of**  
2 **broiler breast with the emerging abnormality spaghetti meat**

3  
4 **Highlights**

- 5
- 6 • Spaghetti Meat (SM) has moderate to severe coagulation necrosis of the  
7 endomysium
  - 8 • SM myopathy impairs the visual appearance of raw or cooked meat
  - 9 • SM fillets presents lower protein content and lower collagen content
  - 10 • The estimated comparison of pyridinoline levels is similar in Normal and SM  
11 fillets
  - 12 • SM fillets shows no changes in protein denaturation and emulsifying capacity
- 13

14 **Abstract**

15

16 Chicken breast meat affected by spaghetti meat (SM) myopathy is characterized by  
17 low structural cohesion and a tendency towards the separation of the muscle fiber  
18 bundles. The objective of this study was to characterize SM fillets by evaluating  
19 biochemical, histopathological, technological and functional parameters. By  
20 histological evaluation, there was moderate to severe coagulation necrosis of the  
21 endomysium of SM fillets, when compared to Normal. SM fillets presented lower  
22 protein content, more yellowish color, lower shear force, lower water holding capacity,  
23 higher cooking loss, lower total and insoluble collagen content, and lower  
24 collagen/protein ratio than the Normal samples. There were no differences between  
25 SM and Normal samples in relation to lipid, ash and moisture contents, pH, protein

26 denaturation and emulsifying capacity, soluble collagen and estimated comparison of  
27 pyridinoline. These characteristics are in accordance with the visual of SM chicken  
28 fillets. The use of SM fillets in emulsified products needs further studies.

29

30 **Keywords:** Collagen. Histology. Meat quality. Pyridinolyne.

31

## 32 **1. Introduction**

33

34 The occurrence of myopathies such as white striping and wooden breast has  
35 been exponentially reported in recent years, and some authors associate the rapid  
36 growth of chicken and genetic selection as possible factors related to these problems  
37 (Kuttappan et al., 2013; Soglia, Laghi, Canonico, Cavani & Petracci, 2016; Soglia,  
38 Mazzoni & Petracci, 2019; Wang et al., 2020; Xing, Zhao, Xu, Li, Zhang & Gao, 2020).

39 However, more recently, a new structural alteration in chicken meat has been  
40 reported known as spaghetti meat (SM). This myopathy is characterized by the  
41 structural alteration of the intramuscular connective tissue, which presents tendency  
42 towards the separation of the fiber bundles (Petracci, Soglia, Madruga, Carvalho, Ida,  
43 & Estévez, 2019). Studies have indicated that meat with SM presents low structural  
44 cohesion due to the immaturity of the connective tissue (Voutila, Ruusunen, Jouppila  
45 & Puolanne, 2009; Petracci & Cavani, 2012; Baldi et al., 2018; Tasoniero, Zhuang,  
46 Gamble & Bowker, 2020). Some SM fillets may not have externally friable fibers but  
47 have problems of low cohesiveness during cooking, resulting in non-uniform cuts  
48 internally (Voutila et al., 2009; Tasoniero et al., 2020).

49 Histological analyses of SM fillets have demonstrated extensive fiber  
50 degeneration and regeneration, and poor fiber uniformity of the connective tissue

51 (Bilgili, 2015; Baldi et al., 2018). These characteristics affect the visual appearance of  
52 fillets and can cause technological and functional meat problems such as decrease in  
53 water holding capacity (WHC) (Baldi et al., 2018; Tasoniero et al., 2020).

54 The probable hypothesis is that SM myopathy can be related to less  
55 endomysium and perimysium connective tissues content. However, some properties  
56 such as emulsifying capacity and protein denaturation could not be affected since the  
57 pH does not change. The number of crosslinks in collagen can affect insoluble collagen  
58 content, but the proportion between pyridinoline content and insoluble collagen can be  
59 the same in Normal and SM samples.

60 There are only a few studies on SM fillets, however, there is great interest in  
61 understanding the characteristics of SM fillets. More information about the collagen  
62 content, connective tissue characteristics, emulsifying capacity and biochemical  
63 parameters of meat are necessary. The aim of the present study was to characterize  
64 SM fillets using a combination of biochemical, histopathological, and technological  
65 analyses and functional parameters and compare these findings with those of Normal  
66 breast meat.

67

## 68 **2. Materials and methods**

69

### 70 *2.1 Classification of samples*

71

72 Sampling was performed in a commercial processing plant located in the state  
73 of Paraná, Brazil. A pool of bird samples of two strains, Ross 308 AP and Cobb 500  
74 Slow, 49 days old, from both genders and with medium weight of 3.1 kg were  
75 slaughtered following the standard industrial practice: hanging, electrical stunning,

76 bleeding, scalding, defeathering, evisceration, cooling in chiller, deboning and  
77 refrigeration. The Ethical Committee on Animal Research from the State University of  
78 Londrina, Brazil approved the research (protocol number 22295.2017.93).

79 Breast meat (*Pectoralis major* muscle) samples were selected and collected  
80 after their mechanical separation from the carcass and were classified through visual  
81 appearance by two experienced people into two groups: SM (when exhibiting low  
82 integrity of fibers and tendency toward separation of the muscle fiber bundles  
83 composing) or Normal (without myopathy). After classification, 45 Normal samples and  
84 45 SM samples were placed in plastic bags, labelled, maintained at 4 °C for 24 hours,  
85 and then submitted to a pH, color (L\*, a\*, b\*), WHC, cooking loss, shear force, protein  
86 denaturation and emulsifying capacity analysis. Samples for proximate composition,  
87 collagen content (total and soluble) and estimated comparison of the pyridinoline  
88 analyses were maintained at -18 °C until used in the analysis. Histological analysis  
89 was done on samples collected 6 h after slaughter. A figure showing the fillet areas  
90 used in the analysis is found in the supplementary material.

91

## 92 *2.2 pH measurement*

93

94 The pH measurements were performed in duplicate 24h *post mortem*, in the  
95 ventral cranial part of the fillets, using a potentiometer with an insertion electrode  
96 (Testo 205) as described by Boulianne & King (1995) and adapted by Olivo, Soares,  
97 Ida & Shimokomaki (2001).

98

## 99 *2.3 Color measurement*

100

101 Color measurements were performed in three different points of the fillets 24h  
102 *post mortem* (Soares, Lara, Ida, Guarnieri, Olivo & Shimokomaki, 2002) using a  
103 colorimeter Minolta® CR-400 with D65 illuminant and 10° viewing angle. The L\*, a\* and  
104 b\* parameters were measured according to the CIELab system.

105

#### 106 2.4 *Cooking loss*

107

108 Cooking loss was determined 24 h *post mortem*, according to the methodology  
109 described by Honikel (1998). Samples were packed in plastic bags and cooked in water  
110 bath, until internal temperature reached 75 °C. The result was expressed in percentage  
111 as the weight difference before and after cooking.

112

#### 113 2.5 *Shear force*

114

115 Shear force was performed on raw and cooked samples. Cooked meat analysis  
116 used the same samples used for measuring cooking loss (item 2.4). Both samples, raw  
117 and cooked, were cut in five pieces of 1 x 1 x 2 cm (height, width, length) and subjected  
118 to the Warner Bratzler blade (WB), with speed of 5 mm s<sup>-1</sup>, coupled with a TA-XT2i  
119 texturometer. Results were expressed in Newton, corresponding to the maximum force  
120 required to cut the meat in the transverse direction to the fibers.

121

#### 122 2.6 *Water holding capacity (WHC)*

123

124 WHC determination was performed 24 hours *post mortem*, in duplicate,  
125 according to the procedure described by Hamm (1961). Samples cut into cubes, with

126 an initial mass of 2.0 g, were placed between two filter papers and two acrylic plates.  
127 This system was left under a 10 kg weight for 5 minutes. WHC was determined by the  
128 exudate water weight by the following equation:

$$129 \quad WHC = \frac{Initial\ weight - Final\ weight}{Initial\ weight} \times 100\%$$

130

### 131 *2.7 Emulsifying capacity*

132

133 The emulsifying capacity of the breast meat was determined by adding 5.0 g of  
134 sample to 30.0 mL of saline (NaCl 1.0 mol L<sup>-1</sup> at 10 °C). The mixture was under stirring  
135 for 2 minutes and allowed to stand for 1 minute. Thereafter, soybean oil was added  
136 under stirring until reaching the point of inversion (breaking) of the emulsion,  
137 determined visually by an abrupt change in emulsion consistency. Emulsifying capacity  
138 was expressed in mL of oil added until emulsion inversion per 100 mg of protein,  
139 according to the method of De Kanterewicz, Elizalde, Pilosof & Bartholomai (1987).

140

### 141 *2.8 Histopathological evaluation*

142

143 Longitudinal and transversal sections were realized in chicken breast for  
144 histopathological analysis, 10 samples each, in two groups (Normal and SM  
145 treatments) totaling 40 samples. All chicken breast muscles fragments were immersed  
146 in 10% buffered formalin solution, and then routinely processed for histopathologic  
147 evaluation with the Hematoxylin and Eosin (H&E) stain; the histochemical Masson's  
148 trichrome stain was used to identify fibrosis within affected muscle fibers.

149

### 150 *2.9 Protein denaturation*

151

152 Denaturation of the chicken fillets soluble proteins was performed in triplicate,  
153 as described by Swatland (1995). Basically, 5.0 g of sample were homogenized with  
154 15.0 mL of distilled water and centrifuged at 10,000 g for 10 minutes. The supernatant  
155 was filtered on filter paper and 1.0 mL was transferred to a capped tube containing 5.0  
156 mL of 0.2 mol L<sup>-1</sup> citrate-phosphate buffer pH 4.6. The blank was prepared with 1.0 mL  
157 of the filtrate and 5.0 mL of distilled water. The transmittance at 600 nm was read by a  
158 UV-Vis spectrophotometer and protein denaturation was expressed in transmittance  
159 %.

160

## 161 *2.10 Proximate chemical composition*

162

163 Proximate chemical composition of the samples was performed following  
164 standard methods described in AOAC (1990). Moisture was determined by drying at  
165 105 °C in an oven to constant weight; ash by incineration in a muffle at 550 °C. Lipids  
166 were extracted in a Soxhlet with petroleum ether after acid hydrolysis (Bridi & Silva,  
167 2009). The nitrogen content was determined by the Kjeldahl method, using the  
168 conversion factor protein of 6.25.

169

## 170 *2.11 Collagen content*

171

### 172 *2.11.1 Total collagen content*

173

174 Total collagen content was determined according to the method of Woessner Jr  
175 (1961). Initially 1.0 g of samples was hydrolyzed with 15 mL of 6 mol L<sup>-1</sup> HCl solution

176 at 105 °C. The hydrolyzate was filtered and the pH adjusted to between 6.0 and 7.0  
177 with 50% (w/v) NaOH and diluted with distilled water to 250 mL. Hydroxyproline  
178 concentration was determined after an oxidative reaction with chloramine T and  
179 perchloric acid by complexation reaction with p-dimethylaminobenzaldehyde in a  
180 spectrophotometer, at 557 nm. Collagen content was calculated from the  
181 hydroxyproline content using the coefficient 8.0 (Kolar, 1990).

182

### 183 2.11.2 Soluble collagen content

184

185 Soluble collagen was extracted according to the modified method of Penfield &  
186 Meyer (1975). A mass of 2.5 g of sample was homogenized with 20 mL of deionized  
187 water for 1 minute. Then it was heated in water bath for 60 minutes, at 80 °C. Next,  
188 the samples were homogenized at 7,500 g, in an Ultra Turrax being centrifuged for 15  
189 minutes at 4,000 g. The supernatant was filtered and 30 mL of 6.0 mol L<sup>-1</sup> of HCl  
190 solution was added for hydrolysis and subsequent collagen quantification, according  
191 to the procedure described for total collagen content (item 2.11.1).

192

### 193 2.11.3 Estimated comparison of pyridinoline

194

195 A more detailed description of the analysis is in the supplementary material. For  
196 the estimated comparison of pyridinoline, collagen was extracted from the samples by  
197 the method of Skinner (1982) with adaptations. After this process, the samples were  
198 left at 105 °C for 24 hours for hydrolysis, according to Eyre, Koob & Van Ness (1984).  
199 A cellulose column was prepared according to Skinner (1982). Separation was realized  
200 according to Skinner (1982) and Avery, Sims, Warkup & Bailey (1996).

201           The lyophilized samples were suspended in 1.0 mL of 20% (v/v) acetic acid  
202 solution for further spectrofluorimetric analysis. Fluorescence intensity (in counts, unit  
203 of equipment) was detected, each sample was measured five times and 20% (v/v) of  
204 acetic acid solution was used as blank.

205

## 206 2.12 *Statistical analysis*

207

208           The results were submitted to Student's t-test at 5% of probability to compare  
209 two groups of meat quality (Normal and SM fillets) using the program *Statistica 7.0* for  
210 Windows.

211

## 212 **3. Results**

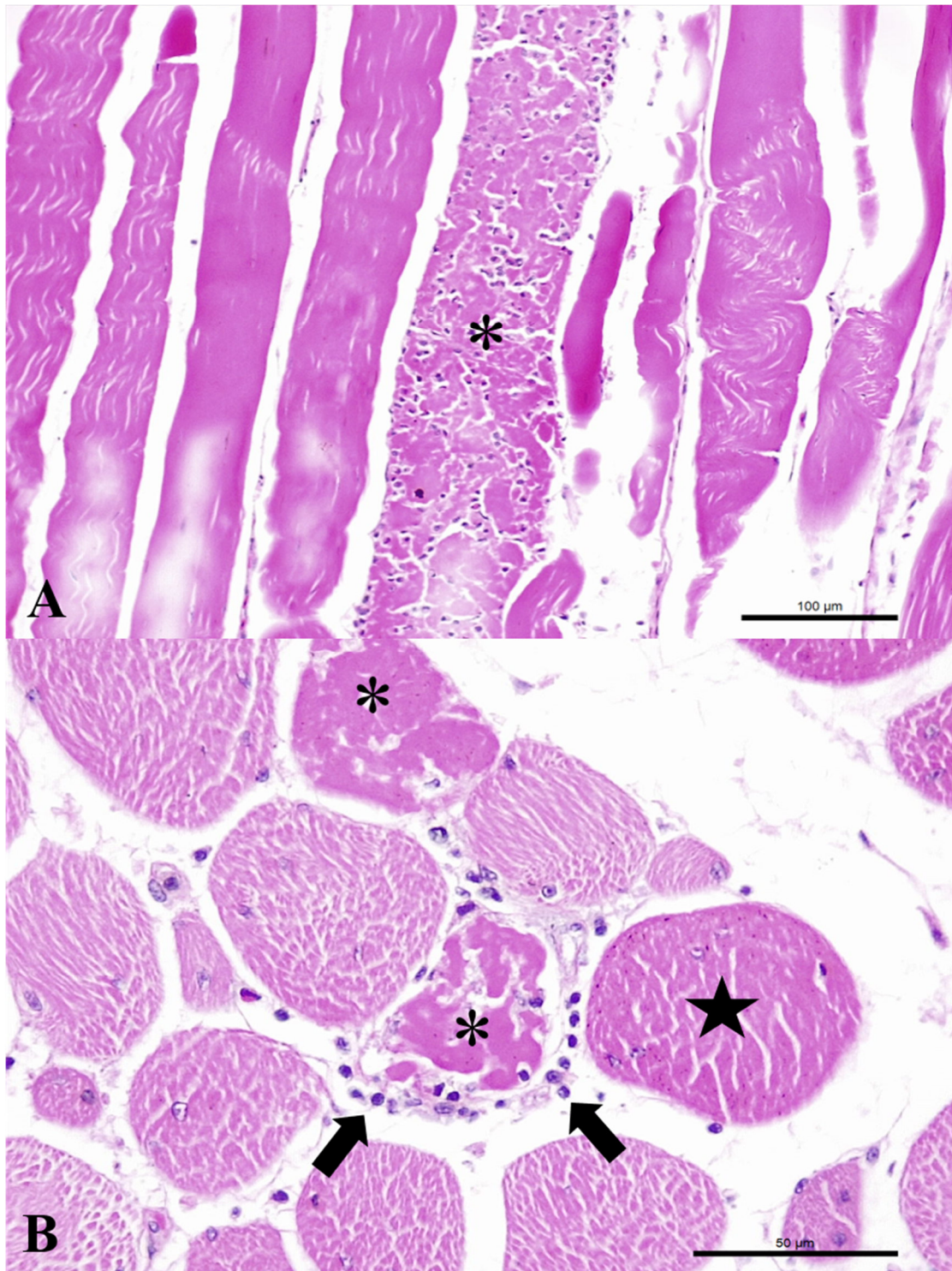
213

### 214 3.1 *Histopathological evaluation*

215

216           Histopathological analysis from tissues of Normal group did not show  
217 inflammatory and/or necrotic changes, in both stains used in this study.  
218 Histopathological findings (Fig. 1) from SM fillets with HE staining showed moderate  
219 fatty infiltration ( $n=9$ ), moderate to severe coagulation necrosis ( $n=8$ ), moderate to  
220 severe, multifocal myositis composed of heterophiles and macrophages ( $n=8$ ) and  
221 moderate loss of muscle striations with marked regeneration of myocytes ( $n=5$ ).  
222 Masson's trichrome stain revealed focal extensive coagulation necrosis of the  
223 perimysium ( $n=9$ ) in longitudinal and transversal samples. In addition, there was  
224 moderate to severe coagulation necrosis of the endomysium ( $n=9$ ).

225



226

227 **Fig 1.** Histopathological findings associated with in spaghetti meat observed in chicken  
228 breast meat. A) Observed marked myositis and coagulative necrosis (asterisk) in  
229 longitudinal section. B) Observed moderate muscle fiber degeneration (star) at the  
230 transversal section, marked myositis and coagulative necrosis (asterisk) surrounded

231 by inflammatory cells (arrows). Hematoxylin & Eosin stain. Bar, A 100  $\mu\text{m}$ , B 50  $\mu\text{m}$ .

232

233 The histological findings observed in this study are in agreement with these  
234 described by Baldi et al. (2018), who also observed fatty infiltration, muscle fiber  
235 degenerations, inflammatory cells, and impairment of perimysium and endomysium.  
236 These characteristics are commonly associated to chicken breasts with myopathies,  
237 such as wooden breast and white striping (Baldi et al., 2018). Poor muscle fibers  
238 uniformity affected by necrosis and loss of striations associated to extensive  
239 coagulation necrosis of perimysium and endomysium, important structures for  
240 maintaining fiber cohesion, are responsible for the muscle fibers detachment that is  
241 characteristic of SM chicken breasts.

242

### 243 *3.2 Proximate chemical composition*

244

245 Results for the proximate chemical composition (Table 1) in Normal and SM  
246 fillets differed ( $p < 0.05$ ) only in relation to total protein content. In SM fillets, the content  
247 of this component was 3.28% lower than in Normal fillets. Baldi et al. (2018) also  
248 observed a decrease in protein content in SM fillets (medium value of 22.7 g 100g<sup>-1</sup>)  
249 in their study, obtaining a very similar difference of 3.29%, between the two types of  
250 meat. Tasoniero et al. (2020) observed even greater differences in protein content,  
251 around 6.20% less in SM fillets (20.3 g 100g<sup>-1</sup> in superficial layer of the breast) than in  
252 Normal fillets. The smaller amount of protein in SM fillets may be related to the loss of  
253 connective tissue around the fibers (impaired perimysium and endomysium), as  
254 observed in the histopathological analysis.

255

256 **Table 1** – Proximate chemical composition of Normal and SM chicken breast meat

<b>Parameters</b>	<b>Normal fillets</b>	<b>SM fillets</b>
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
<b>Lipids (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	1.33 <sup>a</sup> $\pm$ 0.55	1.35 <sup>a</sup> $\pm$ 0.68
<b>Protein (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	21.95 <sup>a</sup> $\pm$ 1.08	21.23 <sup>b</sup> $\pm$ 0.97
<b>Ash (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	1.02 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	1.02 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06
<b>Moisture (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	76.03 <sup>a</sup> $\pm$ 1.17	76.46 <sup>a</sup> $\pm$ 0.98

257 <sup>a-b</sup>Mean values within the same line followed by different superscript letters significantly  
 258 differ by Student's t-test at a 5% level of significance ( $p < 0.05$ ).

259

260 In this work, no difference ( $p > 0.05$ ) was observed between the Normal and SM  
 261 samples in relation to moisture, lipid and ash components, differently from the results  
 262 of Baldi et al. (2018), which obtained differences for moisture (medium values: Normal  
 263 = 74.85 g 100g<sup>-1</sup>, SM = 75.75 g 100g<sup>-1</sup>) and ash (medium values: Normal = 1.20 g  
 264 100g<sup>-1</sup>, SM = 1.13 g 100g<sup>-1</sup>). For lipids, like in this study, they did not obtain any  
 265 statistical difference ( $p > 0.05$ ) (medium values: Normal = 1.55 g 100g<sup>-1</sup>, SM = 1.70 g  
 266 100g<sup>-1</sup>).

267 Baldi et al. (2018) evaluated the proximal chemical composition in the superficial  
 268 and deep layers of the breasts separately and verified discrepancies between data  
 269 values obtained for the two parts. In this study, however, external and internal parts  
 270 were homogenized for a total meat evaluation. Tasoniero et al. (2020), as Baldi et al.  
 271 (2018), evaluated separately the parts of breast separately and found differences in  
 272 relation to the chemical composition between the fillets just in the superficial layer. All  
 273 components were different ( $p < 0.05$ ): moisture of Normal fillets = 75.6 g 100g<sup>-1</sup>, SM  
 274 fillets = 76.0 g 100g<sup>-1</sup>, ash of Normal fillets = 1.13 g 100g<sup>-1</sup>, SM fillets = 1.01 g 100g<sup>-1</sup>,

275 lipid of Normal fillets = 1.20 g 100g<sup>-1</sup>, SM fillets = 1.80 g 100g<sup>-1</sup>.

276 Further studies are needed to verify if there are any significant changes in the  
 277 chemical composition of breast meat affected by connective tissue abnormalities. Baldi  
 278 et al. (2018) evaluated only males from one strain (Ross 308) whereas this study  
 279 considered two strains (Ross 308 AP and Cobb 500 Slow) from both genders, and  
 280 Tasoniero et al. (2020) did not specify the strain studied. It is important to consider that  
 281 different strains were evaluated, since according to Bianchi et al. (2006), bird genotype  
 282 interferes in the incidence of muscular development disorders.

283

#### 284 *Color and pH*

285

286 Color parameters (L\*, a\* and b\*) and pH values results for the Normal and SM  
 287 samples are reported in Table 2. There was no difference ( $p > 0.05$ ) in pH between the  
 288 two groups of breast meat, so the functional alterations in SM fillets are not related to  
 289 low pH, such as in PSE meat (Pale, Soft, Exudative) (Olivo et al., 2001; Wilhelm,  
 290 Maganhini, Hernández-Blazquez, Ida, Shimokomaki, 2010).

291

292 **Table 2** – Color parameters (L\*, a\* and b\*) and pH values of Normal and SM chicken  
 293 breast meat

Parameters	Normal fillets	SM fillets
	Mean ± SD	Mean ± SD
<b>pH</b>	5.81 <sup>a</sup> ± 0.07	5.82 <sup>a</sup> ± 0.08
<b>L*</b>	55.00 <sup>a</sup> ± 2.24	55.9 <sup>a</sup> ± 1.25
<b>a*</b>	2.01 <sup>a</sup> ± 1.04	2.02 <sup>a</sup> ± 1.19
<b>b*</b>	7.96 <sup>b</sup> ± 1.40	9.10 <sup>a</sup> ± 0.92

294 <sup>a-b</sup>Mean values within the same line followed by different superscript letters significantly  
295 differ by Student's t-test at a 5% level of significance ( $p < 0.05$ ).

296

297 Baldi et al. (2019) also obtained pH around 5.8 and found no differences  
298 between the two types of fillets. However, Baldi et al. (2018) and Tasoniero et al. (2020)  
299 reported that SM fillets had higher pH values than the Normal samples, obtaining  
300 averages higher than 6.0. Tasoniero et al. (2020) explain that breasts affected by  
301 myopathies have less content of glycogen in the muscles, so the pH reduction during  
302 the glycolysis process is minor than in Normal breasts. Xing et al. (2020) studied  
303 wooden breast meat and observed that the pH increased with increasing myopathy.

304 In this study, the mixture of genders, strains and the global analysis of the breast  
305 could have affected the pH observation, since Tasoniero et al. (2020) obtained different  
306 ( $p < 0.05$ ) pH for different layers of breasts. Baldi et al. (2018) analyzed only Ross 308  
307 male birds and Baldi et al. (2019) analyzed only Ross 308 female birds, resulting in  
308 different findings.

309 Chicken fillets  $a^*$  and  $L^*$  parameters showed no difference ( $p > 0.05$ ) between  
310 the two groups of meat (Table 2), similar to the result obtained by Baldi et al. (2018).  
311 The blue-yellow ( $b^*$ ) intensity-related parameter, however, was significantly ( $p < 0.05$ )  
312 higher for SM fillets when compared to Normal samples, i.e., they were more yellowish  
313 than the Normal fillets. Petracchi & Berri (2017) correlated the yellowish of the breast  
314 meat affected by anomalies such as SM, white striping and wooden breast with the  
315 lowest amount of heme pigments and strong fibrotic response (necrosis, fibrosis,  
316 lipidosis, regeneration, etc.) in these meats. The change of color in breast meat with  
317 anomalies is an important factor, since, according to Fletcher (2002), color and texture  
318 are the most important attributes for the consumer.

319

320 *Functional and technological properties*

321

322 The shear force required to cut the sample in the transverse direction to the fiber  
 323 in both raw meat and cooked meat was lower for the SM samples than for the Normal  
 324 meat, i.e., SM meat was less resistant to cutting (Table 3). Raw SM samples required  
 325 22.07% less force than the Normal samples, while cooked SM meat required 32.75%  
 326 less force than the Normal meat. The low structural cohesion between the fibers is the  
 327 possible cause of these results, since the connection between the fibers is more fragile  
 328 in SM samples and the strength of the hands is able to disintegrate the connection  
 329 between them.

330

331 **Table 3** – Functional and technological properties of Normal and SM chicken breast  
 332 meat

Parameters	Normal fillets	SM fillets
	Mean ± SD	Mean ± SD
<b>Shear force of raw fillets (N)</b>	15.31 <sup>a</sup> ± 4.79	11.93 <sup>b</sup> ± 3.36
<b>Shear force of cooked fillets (N)</b>	46.44 <sup>a</sup> ± 15.18	31.23 <sup>b</sup> ± 9.42
<b>Water holding capacity (%)</b>	61.44 <sup>a</sup> ± 3.68	59.46 <sup>b</sup> ± 2.66
<b>Cooking loss (%)</b>	26.61 <sup>b</sup> ± 3.27	29.63 <sup>a</sup> ± 3.33
<b>Protein denaturation (%T)</b>	6.36 <sup>a</sup> ± 2.42	6.21 <sup>a</sup> ± 3.50
<b>Emulsifying capacity (mL of oil/100 mg of protein)</b>	29.30 <sup>a</sup> ± 4.03	27.90 <sup>a</sup> ± 4.59

333 <sup>a-b</sup>Mean values within the same line followed by different superscript letters significantly

334 differ by Student's t-test at a 5% level of significance ( $p < 0.05$ ).

335

336 According to Bilgili (2015), the excessive softness of this type of meat is related  
337 to the extensive processes of fibers degeneration and regeneration, which causes low  
338 tissue uniformity. The texture is very important for the consumer's acceptance since  
339 they can be used as a parameter for meat freshness (Fletcher, 2002). SM meat are  
340 extremely friable and "softened" and the consumer may reject them if it is sold in  
341 refrigerated form.

342 SM samples showed a reduction in WHC by 3.22% in relation to the Normal  
343 samples (Table 3). This finding is consistent with Bilgili (2015) statements on the direct  
344 relationship between their low capacity to retain water in the matrix and the decrease  
345 in structural tissue surrounding the fibers, since an extensive necrosis of these tissues  
346 was observed during the histopathological evaluation (Fig. 1). Petracci & Berri (2017)  
347 correlate the deep structural alterations of these muscle fibers to the reduction of WHC  
348 in fillets affected by myopathies, also verified in this study.

349 Visual observations detected damaged SM meat with poorly bonded fibers (see  
350 more details in the Figure in the Supplementary Material) and gaps between the fibers  
351 in raw and cooked meat, which does not occur in Normal meat. In cooked meat, this  
352 SM samples defect makes water to remain attached to the tissue even more difficult  
353 due to the application of external forces or a heating process, explaining the increase  
354 in water loss during cooking.

355 Bilgili (2015) and Petracci & Berri (2017) explain that due to the increase in the  
356 packaging density of the damaged fibers after cooking, it is expected for water to be  
357 expelled from the muscular structure, reducing meat yield. However, this affirmative  
358 does not explain the obtained results, since this study showed that fibers are poorly

359 bonded and do not present dense packaging. Thus, an increase in the WHC of the  
360 meat occurs whenever there is an increase in connective tissue (Hamm, 1961) would  
361 be a better explanation for this case.

362 Products can be manufactured using meat less visually accepted by consumers;  
363 however, it is important to investigate whether the use of breasts affected by  
364 myopathies such as wooden breast, white striping, and SM does not result in quality  
365 loss due to their reduced capacity in maintaining the water attached to the food  
366 (Petracci, Mudalal, Soglia, & Cavani, 2015; Xing et al., 2020). In contrast, once the  
367 addition of salts and substances that help maintain the cohesion of processed foods  
368 occurs, tests would be required to verify the feasibility of applying SM breast meat in  
369 processed products. Petracci et al. (2015) concluded that breast meat with myopathies  
370 such as white striping and wooden breast have impaired technological properties.

371 Although, in this study, SM samples showed lower WHC and higher cooking  
372 loss than the Normal samples in this study, the protein denaturation analysis showed  
373 no difference between the two meat groups. Probably the reduced capacity of the meat  
374 in maintaining the water attached is unrelated to protein denaturation but with protein  
375 content, since SM meat had lower protein content than the Normal samples (Table 1).  
376 There was no difference ( $p > 0.05$ ) in the emulsifying capacity of SM and Normal  
377 samples, which is technologically interesting and makes tests on emulsified processed  
378 products possible. Tasoniero et al. (2020) also investigated the ability of Normal and  
379 SM fillets proteins to form a stable emulsion and obtain the same result from both types  
380 of meat. However, by analyzing emulsion stability, the authors observed lower  
381 stabilization in SM fillets.

382

383 *Collagen content*

384

385 The amount of soluble collagen did not differ ( $p > 0.05$ ) between SM and Normal  
 386 samples (Table 4), whereas in relation to total and insoluble collagens, the Normal  
 387 meat showed higher levels ( $p < 0.05$ ). Since collagen is the main constituent of the  
 388 connective tissue, the reduced amount of this component in the meat can structurally  
 389 damage the fillets (Ricard-Blum, 2011). In fact, according to this study (see more  
 390 details in the Figure in the Supplementary Material) and their visual appearance, the  
 391 SM breast meat showed less WHC when an external force is applied or when the meat  
 392 is cooked and are less resistant to shear (raw or cooked) indicating structural  
 393 impairment.

394

395 **Table 4** – Collagen/protein ratio, total, soluble and insoluble collagen content, and  
 396 estimated comparison between the pyridinoline levels (CNT) of Normal and SM  
 397 chicken breast meat

Parameters	Normal fillets	SM fillets
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
<b>Total collagen (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	1.43 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29	1.22 <sup>b</sup> $\pm$ 0.27
<b>Soluble collagen (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	0.30 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	0.30 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06
<b>Insoluble collagen (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	1.13 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27	0.92 <sup>b</sup> $\pm$ 0.28
<b>Collagen/protein ratio</b>	6.51 <sup>a</sup>	5.72 <sup>b</sup>
<b>CNT/mg of insoluble collagen in 1.0 g dry sample</b>	102.06 <sup>a</sup> $\pm$ 17.86	106.42 <sup>a</sup> $\pm$ 15.46

398 <sup>a-b</sup>Mean values within the same line followed by different superscript letters significantly  
 399 differ by Student's t-test at a 5% level of significance ( $p < 0.05$ ).

400

401 The lowest ( $p < 0.05$ ) amount of collagen insoluble in SM samples and the  
402 resulting lower ( $p < 0.05$ ) amount of total collagen found in this study can be correlated  
403 with the statements of Bilgili (2015). According to Bilgili (2015), the meat with  
404 alterations in the connective tissue present progressive decrease in endomysium and  
405 perimysium due to the immaturity of the collagen deposited in the muscle.

406 Usually, the increase in insoluble collagen correlates to the increase in meat  
407 structural resistance, and the content of collagen crosslinks increases with the age of  
408 the animal (Coró, Youssef & Shimokomaki, 2002). In this experiment, the broilers were  
409 the same age and the difference in total collagen content was mainly in insoluble  
410 collagen content, therefore, the SM samples can be explained by the immaturity of the  
411 connective tissue (Coró, Youssef & Shimokomaki, 2002).

412 Baldi et al. (2018) and Baldi et al. (2019) reported no difference between the  
413 total collagen content between SM and Normal samples and did not individually  
414 evaluate soluble and insoluble collagen contents. However, the mean values obtained  
415 by Baldi et al. (2018) for the total collagen content were 34.9% lower than the mean  
416 values obtained in this study, the data of Baldi et al. (2019) varied between 1.47 and  
417  $1.29 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ .

418 In relation to the collagen/protein ratio (Table 4), there was a difference ( $p <$   
419  $0.05$ ) between SM and Normal samples. The ratio was 12.13 % lower for SM breast  
420 meat when compared to Normal samples, indicating also a decrease in structural  
421 tissue in the meat. No data were found in the literature on the collagen/protein ratio in  
422 SM breast meat, however, authors report that this breast meat is deficient in  
423 intramuscular connective tissue, mainly endomysium and perimysium, which would  
424 justify the lower collagen and protein content (Bilgili, 2015).

425 Results from the estimated comparison between the pyridinoline levels of SM

426 and Normal samples did not differ ( $p > 0.05$ ) (Table 4), indicating that pyridinoline  
427 content is not the factor responsible for the weakening of the fibers but for the lower  
428 amount of total and insoluble collagen. This hypothesis makes sense, once the soluble  
429 collagen becomes insoluble as the formation of the crosslinks occurs with the increase  
430 in the animals' age thus increasing pyridinoline content (Coró, Youssef &  
431 Shimokomaki, 2002). The immaturity or low amount of collagen produced may be  
432 related to genetic factors, once the broilers received the same feed and were raised  
433 under the same environmental conditions.

434 Baldi et al. (2019) evaluated the concentration of hydroxylslypyridinoline in  
435 Normal and SM meat and verified that the superficial layer of the SM breast meat was  
436 46.9% lower than in the Normal fillets, but no differences ( $p > 0.05$ ) between the fillets  
437 was observed in the deep layer. Further studies are needed to establish the cause of  
438 immaturity of the connective tissue in SM breast meat and about the effect of layers  
439 on myopathy, since the problem can affect the superficial and deep layers of the  
440 breasts.

441

## 442 **Conclusion**

443

444 The SM breast meat presented lower protein content and lower total and  
445 insoluble collagen contents, demonstrating that the cause of SM breast meat is the  
446 immaturity of the connective tissue. In addition, the SM samples were more yellowish  
447 and with the functional parameters impaired, which can hinder its use in processed  
448 meat products. These findings are in agreement with histopathological observations  
449 that confirm the hypothesis that endomysium and perimysium impairment are  
450 responsible for the characteristics of SM chicken breasts.

451           The SM miopathy may represent an important economic loss to the poultry  
452 sector, since the *in natura* commercialization of breast meat is inappropriate due the  
453 visual appearance and it use in processed products still needs to be studies mainly  
454 emulsified products.

455

#### 456 **Acknowledgement**

457

458       The authors thank the National Counsel of Technological and Scientific Development  
459 (CNPq) for their financial support.

460

#### 461 **Conflict of interest**

462

463           The authors have declared that there is not a conflict of interest.

464

#### 465 **References**

466

467       AOAC. (1990). Official methods of analysis (15th ed.). Association of Official Analytical  
468 Chemists, Washington DC, USA.

469

470       Avery, N. C., Sims, T. J., Warkup, C. & Bailey, A. J. (1996). Collagen cross-linking in  
471 porcine m. longissimus lumborum: Absence of a relationship with variation in texture  
472 at pork weight. *Meat Science*, 42, 355–69. [https://doi.org/10.1016/0309-](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00021-6)  
473 [1740\(95\)00021-6](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00021-6).

474

475       Baldi, G., Soglia, F., Mazzoni, M., Sirri, F., Canonico, L., Babini, E., Laghi, L., Cavani,

476 C. & Petracci, M. (2018). Implications of white striping and spaghetti meat  
477 abnormalities on meat quality and histological features in broilers. *Animal*, 12, 164-  
478 173. <https://doi.org/10.1017/S1751731117001069>.

479

480 Baldi, G., Soglia, F., Laghi, L., Tappi, S., Rocculi, P., Tavaniello, S., Prioriello, D.,  
481 Mucci, R., Maiorano, G., Petracci, M. (2019). Comparison of quality traits among breast  
482 meat affected by current muscle abnormalities. *Food Research International*, 115,  
483 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.020>.

484

485 Bianchi, M., Petracci, M., Franchini, A. & Cavani, C. (2006). The Occurrence of deep  
486 pectoral myopathy in roaster chickens. *Poultry Science*, 85, 1843–1846.  
487 <https://doi.org/10.1093/ps/85.10.1843>.

488

489 Bilgili, S. F. Broiler chicken myopathies: IV stringy/mushy breast. *Worthwhile*  
490 *Operational Guidelines and Suggestion*. February, (2015). [http://poul.auburn.edu/wp-](http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf)  
491 [content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf](http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf). Accessed 13 February 2019.

492

493 Boulianne, M. & King, J. A. (1995). Biochemical and color characteristics of skinless  
494 boneless pale chicken breast. *Poultry Science*, 74, 1693–1698.  
495 <https://doi.org/10.3382/ps.0741693>.

496

497 Boutten, B., Brazier, M., Morche, N., Morel, A. & Vendeuvre, J. L. (2000). Effects of  
498 animal and muscle characteristics on collagen and consequences for ham production.  
499 *Meat Science*, 55, 233–238. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00148-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00148-5).

500

- 501 Bratzler, L. J. (1949). Determining the tenderness of meat by use of the Warner-  
502 Bratzler method. Proceedings of the Second Annual Reciprocal Meat Conference.  
503 National Livestock and Meat Board, Chicago, IL. AMSA, Savoy, IL, 117–121.  
504
- 505 Bridi, A. M. & Silva, C. A. (2009). Avaliação da carne suína. Londrina: Midiograf.  
506
- 507 Coró, F. A., Youssef, E. Y. & Shimokomaki, M. (2002). Age related changes in poultry  
508 breast meat collagen pyridinoline and texture. *Journal of Food Biochemistry*, 26, 533–  
509 541. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2002.tb00771.x>.  
510
- 511 De Kanterewicz, R. J., Elizalde, B. E., Pilosof, A. M. R., Bartholomai, G. B. (1987).  
512 Water-oil absorption index (WOAI): a simple method for predicting the emulsifying  
513 capacity of food proteins. *Journal of Food Science*, 52, 1381–1383.  
514 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb14087.x>.  
515
- 516 Eyre, D. R., Koob, T. J. & Van Ness, K. P. (1984). Quantitation of hydroxypyridinium  
517 crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Analytical*  
518 *Biochemistry*, 137, 380–388. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(84\)90101-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(84)90101-5).  
519
- 520 Hamm, R. (1961). Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research*, 10,  
521 355–363. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60141-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60141-X).  
522
- 523 Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical  
524 characteristics of meat. *Meat Science*, 49, 447–457. [https://doi.org/10.1016/S0309-](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00034-5)  
525 [1740\(98\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00034-5).

526

527 Kolar, K. (1990). Colorimetric determination of hidroxiprolin as measure of collagen  
528 content in meat and meat products: NMK collaborative study. *Journal of Association of*  
529 *Official Analytical Chemists*, 73, 54-57. <https://doi.org/10.1093/jaoac/73.1.54>.

530

531 Kuttappan, V. A., Shivaprasad, H. L., Shaw, D. P., Valentine, B. A., Hargis, B. M.,  
532 Clark, F. D., McKee, S. R. & Owens, C. M. (2013). Pathological changes associated  
533 with white striping in broiler breast muscles. *Poultry Science*, 92, 331–338.  
534 <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02646>.

535

536 Olivo, R., Soares, A. L., Ida, E. I. & Shimokomaki, M. (2001). Dietary vitamin E inhibits  
537 poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry*,  
538 25, 271–283. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00740.x>.

539

540 Penfield, M. P., & Meyer, B. H. (1975). Changes in tenderness and collagen of beef  
541 semitendinosus muscle heated at two rates. *Journal of Food Science*, 40, 150–154.  
542 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb03758.x>

543

544 Petracci, M. & Berri, C. (2017). Poultry quality evaluation: Quality attributes and  
545 consumer values. Duxford, UK: Woodhead Publishing, (Chapter 3).

546

547 Petracci, M. & Cavani, C. (2012). Muscle growth and poultry meat quality issues.  
548 *Nutrients*, 4, 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu4010001>.

549

550 Petracci, M., Mudalal, S., Soglia, F. & Cavani, C. (2015). Meat quality in fast-growing

551 broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 71, 363–374.

552 <https://doi.org/10.1017/S0043933915000367>.

553

554 Petracci, M., Soglia, F., Madruga, M., Carvalho, L., Ida, E. I. & Estévez, M. (2019).

555 Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: Causes, Consequences and

556 Consumer Perception of Emerging Broiler Meat Abnormalities. *Comprehensive*

557 *Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 565-583. <https://doi.org/10.1111/1541->

558 4337.12431.

559

560 Ricard-Blum, S. (2011). The Collagen Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in*

561 *Biology*, 3, 1–19. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978>.

562

563 Skinner, S. J. M. (1982). Rapid method for purification of the elastin crosslinks,

564 desmosine and isodesmosine. *Journal of Chromatography*, 229, 200–204.

565 [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)86052-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)86052-1).

566

567 Soares, A. L., Lara, J. A. F., Ida, E. I., Guarnieri, P. D., Olivo, R. & Shimokomaki, M.

568 (2002). Variation in the colour of Brazilian broiler breast fillet. *Proceedings International*

569 *Congress of Meat Science Technology*, Rome, Italy, 48, 540–541. [http://icomst-](http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2002_06_44.pdf)

570 [proceedings.helsinki.fi/papers/2002\\_06\\_44.pdf](http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2002_06_44.pdf)

571

572 Soglia, F., Laghi, L., Canonico, L., Cavani, C. & Petracci, M. (2016). Functional

573 property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. *Food*

574 *Research International*, 89, 1071–1076. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.042>.

575

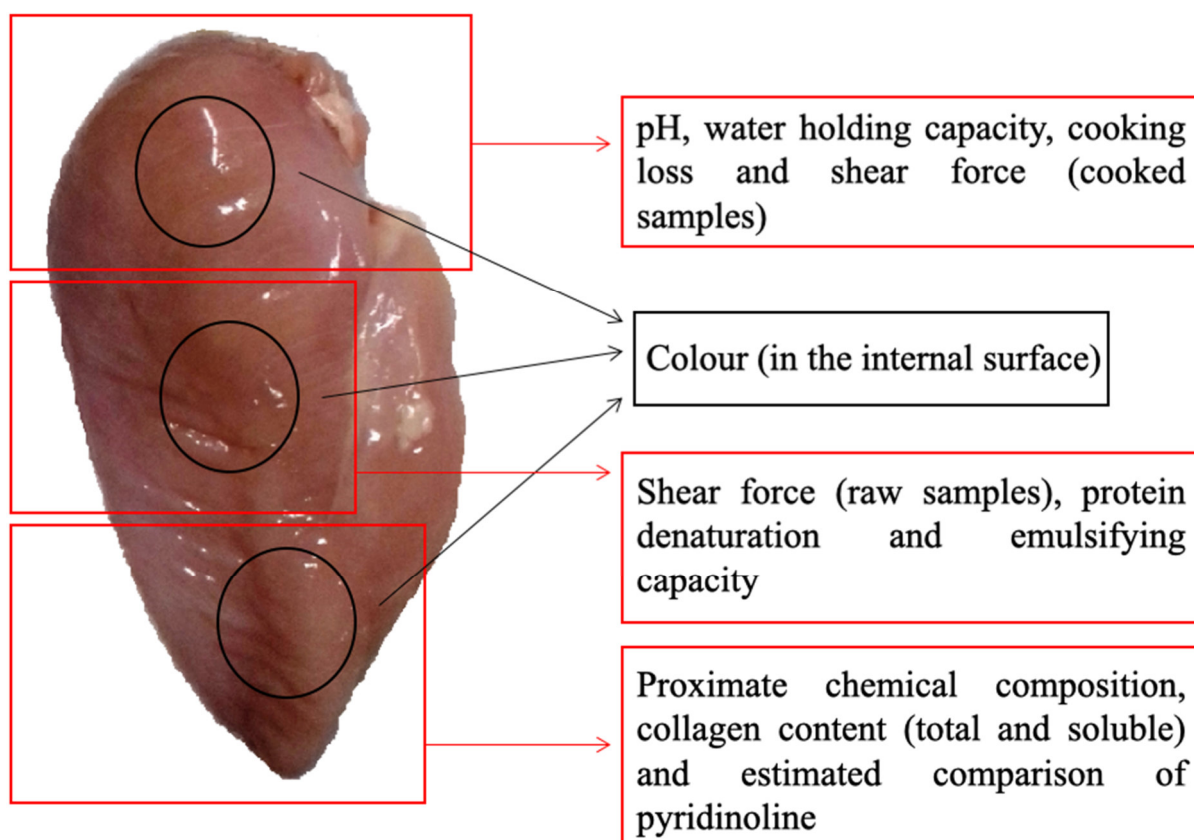
- 576 Soglia, F., Mazzoni, M. & Petracci, M. (2019). Spotlight on avian pathology: current  
577 growth-related breast meat abnormalities in broilers. *Avian Pathology*, 48, 1–3.  
578 <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1508821>.
- 579
- 580 Swatland, H. J. (1995). On line evaluation of meat. Lancaster: Technomic, (Chapter  
581 5).
- 582
- 583 Tasoniero, G., Zhuang, H., Gamble, G. R. & Bowker, B. C. (2020). Effect of spaghetti  
584 meat abnormality on broiler chicken breast meat composition and technological quality.  
585 *Poultry Science*, 99, 1724–1733. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.069>.
- 586
- 587 Voutila, L., Ruusunen, M., Jouppila, K. & Puolanne, E. (2009). Thermal properties of  
588 connective tissue in breast and legmuscles of chickens and turkeys. *Journal of the*  
589 *Science of Food and Agriculture*, 89, 890–896. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3529>.
- 590
- 591 Wang, Y., Yang, Y., Pan, D., He, J., Cao, J., Wang, H., Ertbjerg, P. (2020). Metabolite  
592 profile based on <sup>1</sup>H NMR of broiler chicken breasts affected by wooden breast  
593 myodegeneration. *Food Chemistry*, 310, 125852.  
594 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125852>.
- 595
- 596 Woessner Jr., J. F. (1961). The determination of hidroxiprolin in tissue and protein  
597 samples containing small proportions of this amino acid. *Archives of Biochemistry and*  
598 *Biophysics*, 93, 440–447. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90291-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90291-0).
- 599
- 600 Xing, T., Zhao, X., Xu, X., Li, J., Zhang, L. & Gao, F. (2020). Physiochemical properties,

601 protein and metabolite profiles of muscle exudate of chicken meat affected by wooden  
602 breast myopathy. Food Chemistry, 316, 126271.  
603 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126271>.  
604

## Supplementary material

### *Areas of chicken meat used in analyzes*

Fig. 1 shows the areas of chicken fillets used in the analyses. The pH was measured in the superior region of the fillet by inserting the potentiometer.



**Fig. 1 Supplementary material.** Fillet areas used in the analyses.

### *Analysis of pyridinoline content estimation in chicken meat*

To estimate pyridinoline content, collagen were extracted from samples by the method of Skinner (1982) with adaptations. Initially 10 g of sample were transferred to an Erlenmeyer flask coated with aluminum foil containing 200 mL of 0.6 mol L<sup>-1</sup> KCl solution and kept under stirring for 24 h at 4 °C. The samples were centrifuged at 4,000

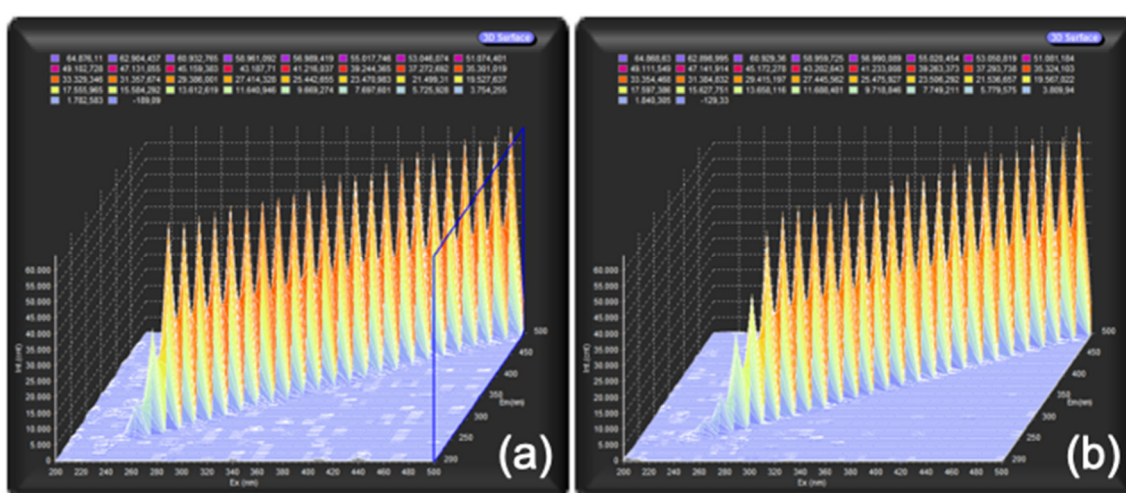
g for 25 minutes in a refrigerated centrifuge at 4 °C. The precipitate obtained was left in water under refrigeration (4 °C) for 24 h and washed with 50 mL of ice water (4 °C), homogenized and then centrifuged again and the water was discarded, repeating this process for 6 times. The resulting precipitate was frozen and freeze-dried for 36 h. After this process, 100 mg of the lyophilized material was taken in a screw capped tube and 1.0 mL of 6 mol L<sup>-1</sup> HCl solution was added. The samples were left at 105 °C for 24 hours for hydrolysis (Eyre, Koob & Van Ness, 1984).

After sample hydrolysis, 0.5 mL of cellulose solution, 0.5 mL of acetic acid and 2 mL of 1-butanol were added to the tube. The mixture was homogenized and poured in a cellulose column prepared according to Skinner (1982). The flask was washed with 1.5 mL of mobile phase (1-butanol, water and acetic acid, in the proportion 4:1:1) and the contents were again poured into the column. The column was washed three times with 5.0 mL aliquots of the mobile phase. To extract the pyridinolines retained in the cellulose, 5.0 mL of ultrapure water were passed through the column and collected for further centrifugation at 3,000 g for 8 minutes in a refrigerated centrifuge at 4 °C. After centrifugation the supernatant phase was discarded and the remainder was frozen and freeze-dried for 24 h for later estimated pyridinoline analysis (Skinner, 1982; Avery, Sims, Warkup & Bailey, 1996).

The lyophilized samples were suspended in 1.0 mL of 20% (v/v) acetic acid solution, to standardize pH and ensure that all structures are charged electrically in the same way, for further spectrofluorimetric analysis. Detection of fluorescence intensity (in counts, arbitrary unit of equipment) was determined using the excitation at 297 nm and emission at 380 nm (Eyre, Koob & Van Ness, 1984).

The method is comparative, since no pyridinoline standard was used as a reference, however, it is estimated that the pyridinoline fraction is the majority or the

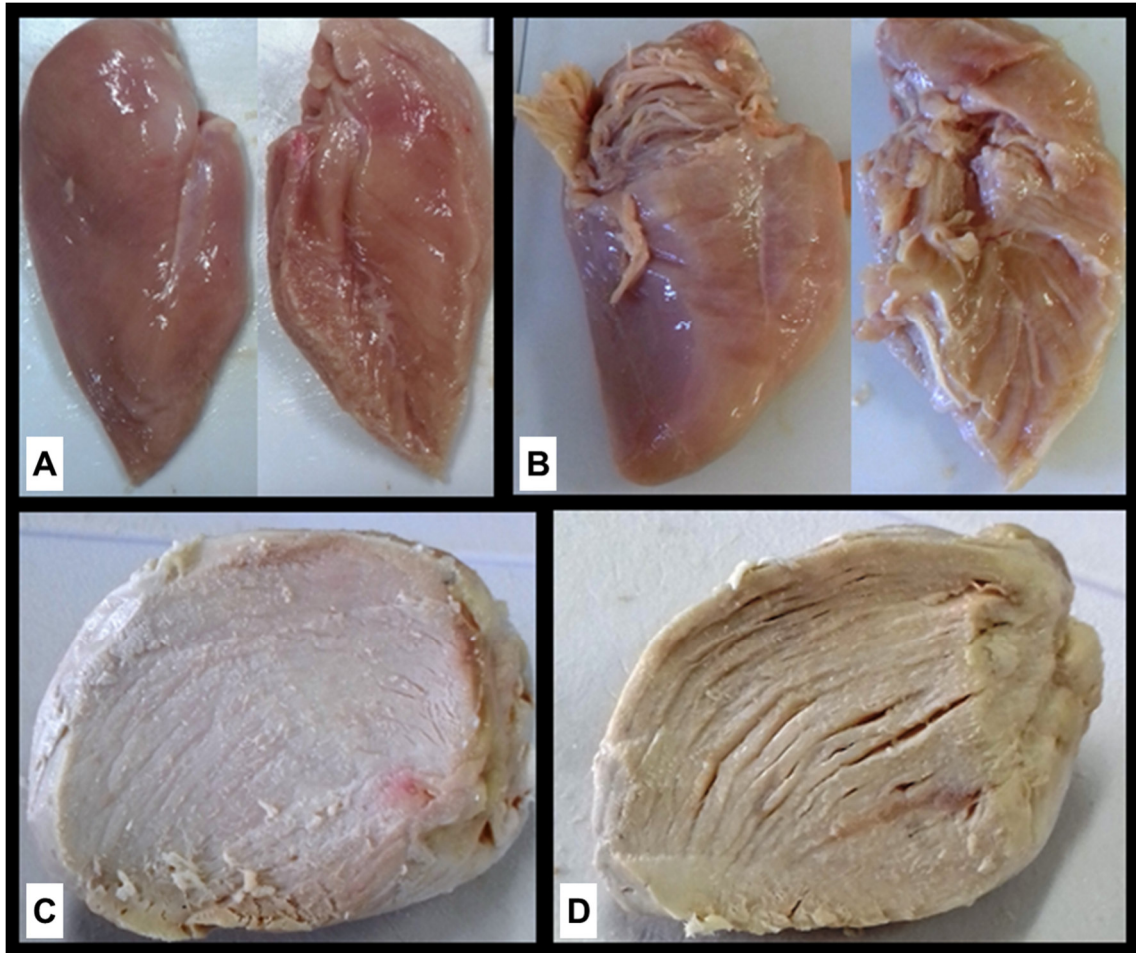
only one, since the preparation of the sample favors the isolation of this component of the matrix. The absorption and emission spectra of fluorescence was obtained for all samples to guarantee that were comparable and presents similar spectra (Fig. 2). Additionally, Zhang, Liu, Yi, Chen, Li & Min (2009) argument that the tryptophan residue, a possible interfering element, emits light at 340 nm, did not interfere in the wave-length used in this work. The measure of each sample was performed five times and 20% (v/v) acetic acid solution was used as blank.



**Fig. 2 Supplementary material.** Fluorescence spectra (200 – 500 nm) obtained for (a) Normal and (b) SM samples.

### *Characteristics of Normal and SM chicken fillets raw and cooked*

Fig. 3 shows the appearance of Normal and SM samples of chicken fillets raw and cooked. Raw Normal fillets (A) have cohesive fibers, while SM fillets (B) have altered structural integrity of the fibers. After cooked, Normal fillets remain intact (C), while SM fillets present gaps between the fibers (D).



**Fig. 3 Supplementary material.** (A) Internal and external surface of Normal raw chicken breast meat; (B) Internal and external disintegrated surface of SM raw chicken breast meat; (C) Piece of Normal chicken breast meat after cooked; (D) piece of SM chicken breast meat after cooked (with gaps between fibers)

### *References*

Avery, N. C., Sims, T. J., Warkup, C. & Bailey, A. J. (1996). Collagen cross-linking in porcine m. longissimus lumborum: Absence of a relationship with variation in texture at pork weight. *Meat Science*, 42, 355–69. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00021-6](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00021-6).

Eyre, D. R., Koob, T. J. & Van Ness, K. P. (1984). Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 137, 380–388. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(84\)90101-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(84)90101-5).

Skinner, S. J. M. (1982). Rapid method for purification of the elastin crosslinks, desmosine and isodesmosine. *Journal of Chromatography*, 229, 200–204. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)86052-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)86052-1).

Zhang, J., Liu, W., Yi, Z., Chen, R., Li, Y. & Min, Y. (2009). The molecular mechanism of photodynamic therapy to fibrosis: Regulation on the pyridinoline cross-link formation in collagen. *Chinese Science Bulletin*, 54, 2230–2234. <https://doi.org/10.1007/s11434-009-0420-z>.

## 5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2 - ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS UTILIZANDO FILÉS DE FRANGO COM MIOPATIA *SPAGHETTI MEAT*

A formatação do seguinte artigo encontra-se de acordo com as normas da revista científica "LWT - Food Science and Technology".

1 **Elaboração e avaliação de produtos cárneos utilizando filés de frango com**  
2 **miopatia *Spaghetti Meat***

3  
4 Fernanda Jéssica MENDONÇA<sup>a</sup>, Ana Clara Longhi PAVANELLO<sup>a</sup>, Iolanda Cristina  
5 Cereza ZAGO<sup>a</sup>, Adriana Lourenço SOARES<sup>a</sup>

6 <sup>a</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de  
7 Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 6, CEP 86.057-970, Londrina, PR, Brasil.

8  
9 **Highlights**

- 10 • Chicken products prepared from spaghetti meat (SM) had lower protein content  
11 • The lower protein content led to a lower water-holding capacity  
12 • The oxidative stability of SM products was similar to that of control products

13  
14 **Abstract**

15 Chicken sausages and pre-cooked, frozen, marinated, shredded chicken breast  
16 prepared from spaghetti meat were evaluated for chemical composition, color, water  
17 activity and lipid oxidation. Products prepared from normal chicken breast were  
18 assessed for comparison. Sausages were evaluated also for texture and water-holding  
19 capacity, while shredded chicken were evaluated for weight loss after thawing and  
20 warmed-over flavor. Sausages and shredded chicken made with spaghetti meat had  
21 lower protein content and, consequently, lower water-holding capacity than control  
22 products. There was no influence of spaghetti meat on the hardness and lipid stability  
23 of sausages or on the lipid stability, warmed-over flavor, and L\* and b\* values of  
24 shredded chicken. The results showed that utilization of spaghetti meat in chicken  
25 sausages and shredded chicken is a feasible solution to reduce economic losses.

26 *Keywords:* Sausage, Marinated meat, Lipid oxidation, Ready-to-eat food.

27

## 28 **1. Introduction**

29

30 Spaghetti meat (SM), an emerging myopathy affecting broiler breast muscle  
31 (*pectoralis major*), is characterized by changes in intramuscular connective tissue that  
32 result in low structural cohesion and fragmented fiber bundles. Impairment of muscle  
33 integrity is such that SM can disintegrate when pressed between fingers (Baldi et al.,  
34 2018; Baldi et al., 2019; Tasoniero, Zhuang, Gamble, & Bowker, 2020). Because of  
35 their compromised appearance and higher probability of rejection by consumers,  
36 affected breast fillets are generally not sold as fresh retail meat (Baldi et al., 2018).  
37 Total or partial disposal of SM fillets may result in great economic losses. One  
38 alternative is to use SM to manufacture processed meat products, such as sausages  
39 and emulsified meat (Baldi et al., 2018).

40 Previous studies have investigated the feasibility of using breast meat with  
41 myopathies in processed products. Kuttappan, Hargis, and Owens (2016) stated that  
42 the use of chicken fillets affected by wooden breast and white striping may compromise  
43 the quality of meat products, such as, for instance, marinated chicken breast. In  
44 contrast, Rigdon et al. (2019) argued that it is possible to use wooden breast meat to  
45 produce sausages without negative effects on quality. No reports were found on the  
46 use of SM fillets to manufacture processed meat products.

47 Chicken sausages and shredded chicken have gained importance because of their  
48 easy preparation. Sausages are usually made from lower-quality raw materials, such  
49 as mechanically separated meat, and are therefore low-cost. Shredded chicken is a  
50 practical pre-prepared product (Sousa et al., 2017; Kieling, Delarco & Prudêncio,

51 2019). This study aimed to prepare chicken sausages shredded chicken from SM and  
52 compare their physicochemical properties with those of meat products made from  
53 normal chicken breast.

54

## 55 **2. Material and methods**

56

### 57 *2.1. Materials*

58

59 This research was approved by the Animal Ethics Committee of the State University  
60 of Londrina (protocol no. 22295.2017.93). A pool of chicken breasts samples from  
61 Ross 308 AP and Cobb 500 Slow broilers of both sexes (mean age, 46 days; mean  
62 body weight, 3.27 kg) were obtained from two different flocks from a commercial  
63 slaughterhouse in Paraná State, Brazil. The birds were slaughtered and processed by  
64 standard commercial methods (electrical stunning, bleeding, scalding, plucking,  
65 evisceration, chilling, and mechanical separation). Samples were visually classified as  
66 SM-affected or normal by a two trained specialist. SM breasts were identified by the  
67 presence of disintegrated fiber bundles. Samples were packed in polyethylene bags  
68 and stored at 4 °C for 24 h before product preparation. Chicken breasts were collected  
69 twice.

70

### 71 *2.2. Chicken sausages*

72

#### 73 *2.2.1. Preparation of chicken sausages*

74 Two chicken sausage formulations were prepared, one using SM and the other  
75 using normal chicken breast (control). First, chicken breast (40.00%) was ground and

76 homogenized in a food processor (Philco Maxxi 800W). The other ingredients were  
77 added in the following order: sodium triphosphate (0.50%), ice (10.00%), mechanically  
78 separated meat (30.20%), curing salts (0.25%), table salt (1.70%), ground chicken skin  
79 (10.00%), sausage seasoning (1.00%), monosodium glutamate (0.30%), liquid smoke  
80 (0.03%), sugar (0.50%), and soy protein isolate (2.82%). Finally, sodium erythorbate  
81 (0.30%), carmine 3% (20  $\mu$ L, SBR Foods Ltda), sodium lactate (0.40%), and cassava  
82 starch (2.00%) were added and mixed until complete homogenization.

83 The resulting emulsion was stuffed into collagen casings, cooked in a boiling water  
84 bath until the internal temperature reached 72 °C, and cooled in an ice bath until the  
85 internal temperature reached 10 °C. The casings were removed after cooling, and the  
86 sausages were vacuum-packed and stored at 4 °C. Analyses were performed after 2,  
87 15, 60, and 90 days of storage.

88

### 89 2.2.2. *Color analysis*

90 Color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) were measured on six different points in the  
91 internal portion of sausages by using a Minolta CR-400 colorimeter (D65 illuminant) at  
92 a viewing angle of 10°.

93

### 94 2.2.3. *Determination of water activity ( $a_w$ )*

95  $a_w$  was determined on an Aqualab Dew Point 4tev water activity meter.

96

### 97 2.2.4. *Water-holding capacity (WHC)*

98 WHC was measured and expressed as a percentage according to the method  
99 proposed by Troy, Desmond, and Buckley (1999).

100

101 *2.2.5. Texture profile analysis*

102 Sausages were cut into pieces of 2.0 cm diameter and 2.0 cm thickness and  
103 subjected to two consecutive compressions to 30% of their original thickness using a  
104 TA.XT2i universal texture analyzer and a P25 probe at 2 mm s<sup>-1</sup> and 0.98 N. The  
105 evaluated parameters were hardness, chewability, cohesiveness, and elasticity.

106

107 *2.2.6. Lipid peroxidation analysis*

108 2-Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) were extracted by a method  
109 adapted from Mendes, Cardoso, and Pestana (2009) using 7.5% (w/v) trichloroacetic  
110 acid for precipitation and 2-thiobarbituric acid (TBA) for derivatization. Quantification  
111 was performed according to Tarladgis, Watts, Younathan, and Dugan (1960), and the  
112 results are expressed in mg malondialdehyde (MDA) kg<sup>-1</sup> sample.

113

114 *2.2.7. Proximate composition analysis*

115 The proximate composition of SM and control sausages was determined by AOAC  
116 methods (1990). Lipids were extracted by acid hydrolysis (Bridi & Silva, 2009).  
117 Carbohydrate contents were calculated by difference.

118

119 *2.3. Shredded chicken*

120

121 *2.3.1 Preparation of shredded chicken*

122 Two pre-cooked, frozen, marinated, shredded chicken breast formulations were  
123 prepared, one using SM and the other using normal chicken breast (control). Chicken  
124 breast samples were weighed, placed in individual polyethylene bags, and thoroughly  
125 injected to 20% weight gain with brine (89.0% water, 8.0% sodium chloride, 2.0%

126 sodium tripolyphosphate, 0.5% monosodium glutamate, and 0.5% sodium erythorbate)  
127 (Brazil, 2003).

128 The bags with the brine were sealed, left at 4°C for 30 minutes and cooked in a  
129 water bath at 85 °C for 40 min after the internal temperature had reached 75 °C. After  
130 cooking, the samples were cooled at 4 °C and shredded three at a time by using a  
131 planetary mixer (Arno Deluxe) and a mixing paddle at speed 4 for 2 to 3 min until the  
132 portion was homogeneously shredded. After shredding, the portions were  
133 homogenized, aliquoted, and stored in polyethylene bags at -18 °C until use. Prior to  
134 analysis, samples were thawed at 4 °C for 24 h. Analyses were performed at 2, 15, 45,  
135 and 60 days after storage.

136

### 137 *2.3.2. Color analysis*

138 Color measurements ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) were performed in triplicate in portions of  
139 shredded chicken packed into 15 mL round sample containers (white background)  
140 using a Minolta CR-400 colorimeter (D65 illuminant) at a viewing angle of 10°.

141

### 142 *2.3.3. Determination of $a_w$*

143  $a_w$  was determined as described in Section 2.2.3.

144

### 145 *2.3.4. Weight loss after thawing*

146 Thawing loss was determined according to the method of Oliveira et al. (2015).  
147 shredded chicken samples were weighed shortly after preparation and then frozen at  
148 -18°C. Two days before the 15-, 45-, and 60-day evaluations, samples were removed  
149 from the freezer and stored at 4 °C. Thawing loss was calculated as the percentage of  
150 weight lost after thawing.

151

152 *2.3.5. TBARS assay*

153 TBARS extraction and determination were performed according to Tarladgis et al.  
154 (1960).

155

156 *2.3.6. Warmed-over flavor (WOF)*

157 WOF was analyzed by a method adapted from Igene and Pearson (1979). Samples  
158 were thawed at 4 °C for 48 h and then reheated in a water bath at 85 °C for 6 min.  
159 Subsequently, the TBARS assay was performed according to Tarladgis et al. (1960).

160

161 *2.3.7. Proximate composition analysis*

162 Proximate composition was determined by AOAC methods (1990).

163

164 *2.4. Statistical analysis*

165

166 Differences between SM and control products were assessed by Student's *t*-test at  
167 the 5% significance level. Data were subjected to analysis of variance followed by  
168 Tukey's test at the 5% level for comparisons between storage times. Statistical  
169 analyses were performed using Statistica version 7.0.

170

171 **3. Results and discussion**

172

173 *3.1. Chicken sausages*

174

175 *3.1.1. Proximate composition and  $a_w$*

176 Proximate analysis showed that the chemical properties of both sausage  
 177 formulations (Table 1) were in compliance with Brazilian legislation: lipid content was  
 178 lower than 30%, carbohydrate content was lower than 7%, and protein content was  
 179 higher than 12% (Brazil, 2000).

180

181 **Table 1.** Proximate composition and water activity ( $a_w$ ) of chicken sausages prepared  
 182 from spaghetti meat (SM) or normal chicken breast (control).

Parameter	Control sausages	SM sausages
Moisture (g 100 g <sup>-1</sup> )	65.15 ± 1.09 <sup>a</sup>	65.06 ± 1.19 <sup>a</sup>
Protein (g 100 g <sup>-1</sup> )	18.61 ± 0.62 <sup>a</sup>	17.90 ± 0.46 <sup>b</sup>
Lipids (g 100 g <sup>-1</sup> )	10.00 ± 0.32 <sup>b</sup>	10.52 ± 0.34 <sup>a</sup>
Ash (g 100 g <sup>-1</sup> )	3.46 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.56 ± 0.10 <sup>a</sup>
Carbohydrates (g 100 g <sup>-1</sup> )	2.78 ± 1.15 <sup>a</sup>	2.96 ± 0.80 <sup>a</sup>
$a_w$	0.975 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.971 ± 0.009 <sup>a</sup>

183 Values are presented as mean ± standard deviation ( $n = 14$ ).

184 <sup>a,b</sup> Means within rows followed by different letters differ significantly by Student's *t*-test  
 185 ( $p < 0.05$ ).

186

187 Protein and lipid contents differed ( $p < 0.05$ ) between formulations. SM sausages  
 188 had a 4.9% higher lipid content and a 3.9% lower protein content than control  
 189 sausages. The lower protein content of SM sausages agrees with the lower protein  
 190 concentrations of SM, as found here and in Baldi et al. (2018). The authors observed  
 191 that SM fillets had 3.28% less protein than normal chicken breast fillets. Protein quality  
 192 and content are important attributes in the production of emulsified meat products.  
 193 Myofibrillar proteins have gel-forming properties that confer softness and improve  
 194 WHC, particularly when added with phosphates and subjected to heat (Wang, Xu, &  
 195 Zhou, 2009; Shan et al., 2020). Regarding lipid content, no differences ( $p > 0.05$ ) were

196 observed between SM and normal fillets, in agreement with Baldi et al. (2018).  
197 Tasoniero et al. (2020), however, found that the presence of SM myopathy increased  
198 lipid content by 50.0%.

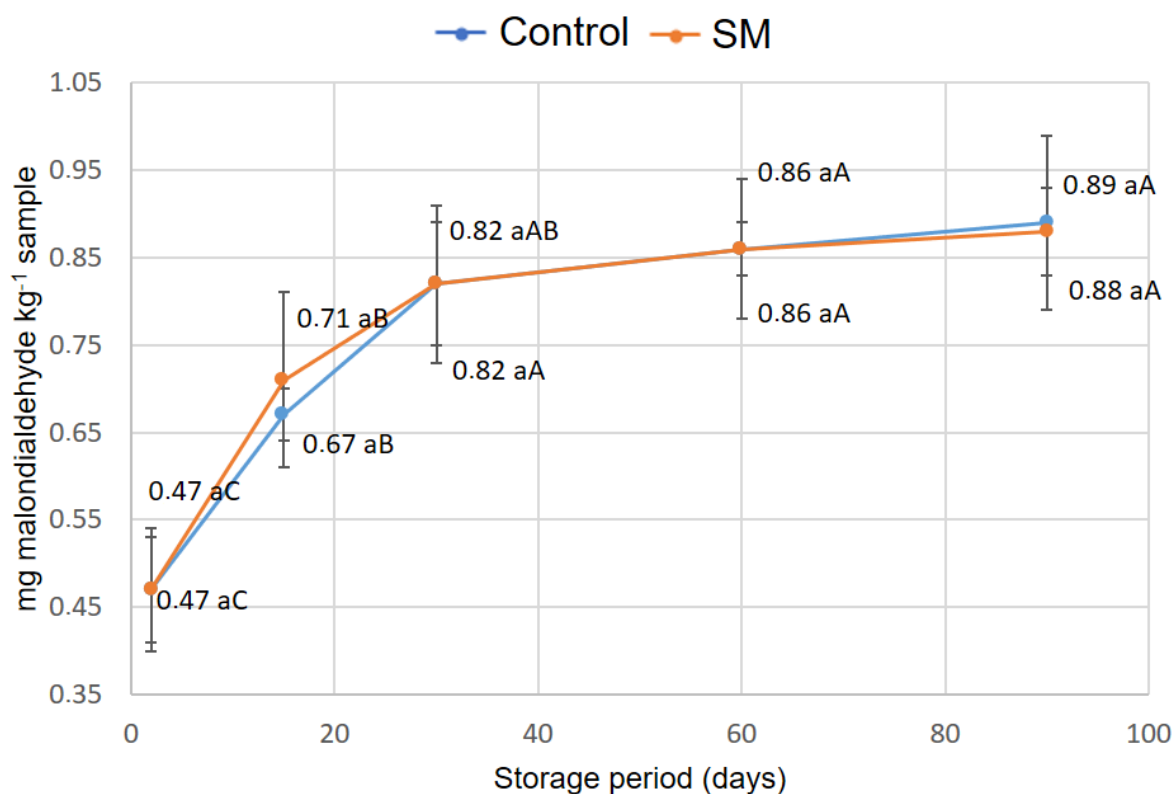
199 Moisture, ash, and carbohydrate contents did not differ ( $p > 0.05$ ) between SM and  
200 normal sausages. The same was observed for  $a_w$  ( $p > 0.05$ ). The values found in the  
201 current study were similar to that reported by Ashadi and Anuntagool (2019) (0.98) but  
202 higher than that found by Andrés, García, Zaritzky, and Califano (2006) (0.963),  
203 possibly because of water bath cooking.

204

### 205 3.1.2. Lipid oxidation

206 Sausage formulations did not differ ( $p > 0.05$ ) in TBARS content in any of the  
207 evaluated periods (Fig. 1). The high lipid content of SM sausages (Table 1) did not  
208 promote an increase in oxidative metabolism, probably because of the presence of  
209 sodium erythorbate, which exerts antioxidant effects against lipid oxidation (Duong et  
210 al., 2008). Over the 90-day storage period, both formulations showed similar lipid  
211 oxidation patterns, with a 47.0% increase in TBARS values. Initial TBARS values were  
212 comparable to those of chicken sausages prepared by Fang, Lin, Ha, and Warner  
213 (2019) (0.53 mg MDA kg<sup>-1</sup>) and 50% lower than those of sausages obtained by Bolger,  
214 Brunton, Lyng, and Monahan (2016) (1.0 mg MDA kg<sup>-1</sup>). TBARS values were below  
215 the detection threshold for untrained consumers (2 mg MDA kg<sup>-1</sup>) (Campo et al., 2006).

216



217

218 **Fig. 1.** Lipid oxidation values (mg malondialdehyde kg<sup>-1</sup> sample) of chicken sausages  
 219 prepared from spaghetti meat (SM) and normal chicken breast (control) during 90 days  
 220 of storage at 4 °C. Results are expressed as mean and error bars represent the standard deviation  
 221 ( $n = 7$ ). Means followed by different lowercase letters are significantly different by Student's  $t$ -test ( $p <$   
 222  $0.05$ ), and means followed by different uppercase letters are significantly different by Tukey's test ( $p <$   
 223  $0.05$ ).

224

### 225 3.1.3. Color and WHC

226 SM sausages were darker ( $p < 0.05$ ) than normal sausages. This difference was  
 227 maintained throughout storage, except at 60 days, when no differences in L\* value  
 228 were observed ( $p > 0.05$ ) between formulations (Table 2). The a\* value of SM  
 229 sausages was higher ( $p < 0.05$ ) at all periods, indicating a more intense red color. Such  
 230 differences in L\* and a\* values were not expected, as SM fillets did not differ from  
 231 normal fillets in these parameters (Mendonça, 2021; Baldi et al., 2018). The b\* value

232 differed ( $p < 0.05$ ) between formulations at 30 days of storage, with lower values in SM  
 233 than in control sausages.

234 During storage, a decrease in lightness and redness was observed in normal  
 235 (0.34%) and SM (6.81%) sausages, and normal sausages increased in yellowness ( $p$   
 236  $< 0.05$ ). Changes in lightness and color can be attributed to pigment oxidation. For  
 237 instance, oxidation of myoglobin in meat causes a reduction in redness and an  
 238 increase in yellowness (Faustman, Sun, Mancini & Suman, 2010; Faustman & Suman,  
 239 2017).

240

241 **Table 2.** Color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) and water-holding capacity (WHC) of  
 242 chicken sausages prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken breast  
 243 (control) during 90 days of storage at 4 °C.

Parameter	Storage period	Control sausages	SM sausages
$L^*$	2	64.43 ± 0.39 <sup>aAB</sup>	63.96 ± 0.33 <sup>bA</sup>
	15	64.80 ± 0.78 <sup>aA</sup>	62.73 ± 0.32 <sup>bBC</sup>
	30	63.94 ± 0.78 <sup>aABC</sup>	62.81 ± 0.31 <sup>bB</sup>
	60	63.03 ± 0.96 <sup>aC</sup>	62.31 ± 0.24 <sup>aBC</sup>
	90	63.47 ± 0.74 <sup>aBC</sup>	62.12 ± 0.73 <sup>bC</sup>
$a^*$	2	15.80 ± 0.25 <sup>bA</sup>	16.16 ± 0.30 <sup>aA</sup>
	15	15.44 ± 0.40 <sup>bAB</sup>	16.01 ± 0.44 <sup>aAB</sup>
	30	15.13 ± 0.45 <sup>bBC</sup>	15.62 ± 0.25 <sup>aB</sup>
	60	15.15 ± 0.46 <sup>bBC</sup>	15.58 ± 0.13 <sup>aB</sup>
	90	14.67 ± 0.33 <sup>bC</sup>	15.06 ± 0.23 <sup>aC</sup>
$b^*$	2	8.95 ± 1.43 <sup>aC</sup>	9.12 ± 1.47 <sup>aA</sup>
	15	9.11 ± 0.26 <sup>aBC</sup>	8.96 ± 0.20 <sup>aA</sup>
	30	9.59 ± 0.22 <sup>aABC</sup>	8.93 ± 0.08 <sup>bA</sup>
	60	10.06 ± 0.08 <sup>aAB</sup>	9.75 ± 0.07 <sup>bA</sup>
	90	10.35 ± 0.24 <sup>aA</sup>	9.96 ± 0.22 <sup>bA</sup>

	2	89.34 ± 0.96 <sup>aA</sup>	88.51 ± 1.45 <sup>aA</sup>
	15	88.90 ± 0.71 <sup>aAB</sup>	87.79 ± 1.37 <sup>aA</sup>
WHC (%)	30	88.08 ± 1.56 <sup>aAB</sup>	88.07 ± 1.22 <sup>aA</sup>
	60	87.50 ± 0.95 <sup>aB</sup>	85.04 ± 1.26 <sup>bB</sup>
	90	80.07 ± 1.00 <sup>aC</sup>	78.30 ± 1.46 <sup>bC</sup>

244 Values are presented as mean ± standard deviation ( $n = 7$ ).

245 <sup>a,b</sup> Means within rows followed by different lowercase letters are significantly different  
246 by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

247 <sup>A,B,C</sup> Means within a parameter followed by different uppercase letters are significantly  
248 different by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

249

250 WHC differed ( $p < 0.05$ ) between sausages stored for 60 and 90 days. WHC values  
251 were lower in SM sausages, probably because of the greater spacing between SM  
252 fibers and the lower protein content of SM sausages (Table 1). Proteins can bind to  
253 water, increasing the moisture content of the food matrix (Shan et al., 2020). SM fillets,  
254 according to Bilgili (2015), have lower WHC because of the lower amount of structural  
255 tissue surrounding muscle fibers. For both formulations, WHC decreased over storage  
256 ( $p < 0.05$ ) by about 10%.

257

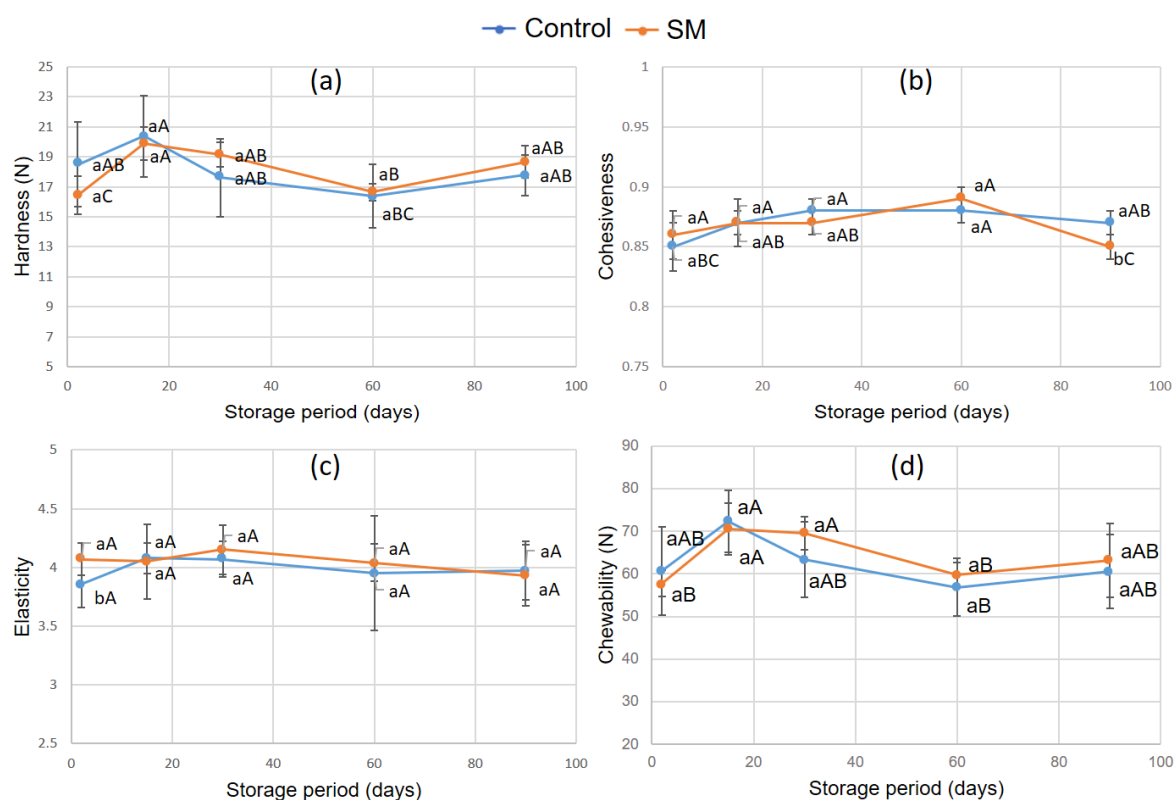
#### 258 3.1.4. Texture profile analysis

259 Texture profile analysis revealed no differences ( $p > 0.05$ ) in hardness between  
260 sausage formulations at any of the storage periods (Fig. 2), including at 60 and 90  
261 days, when WHC was lower in SM sausages. It is likely that the ingredients and  
262 additives used in the formulation, mainly tripolyphosphate, contributed to the hardness  
263 of chicken sausages (Wang, Xu, & Zhou, 2009).

264 Cohesiveness, a property associated with the ability of a food product to deform

265 before breaking (Civille & Szczesniak, 1973), differed ( $p < 0.05$ ) between normal and  
 266 SM sausages stored for 90 days. SM sausages were less cohesive than control  
 267 sausages. These results are consistent with the lower cohesion and protein content of  
 268 SM fillets, as both factors contribute to the formation and stability of emulsions (Wang,  
 269 Xu, & Zhou, 2009).

270



271

272 **Fig. 2.** (a) Hardness, (b) cohesiveness, (c) elasticity, and (d) chewability of chicken  
 273 sausages prepared from spaghetti meat (SM) and normal chicken breast (control)  
 274 during 90 days of storage at 4 °C. Error bars represent the standard deviation ( $n = 7$ ). Means  
 275 followed by different lowercase letters are significantly different by Student's  $t$ -test ( $p < 0.05$ ), and means  
 276 followed by different uppercase letters are significantly different by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

277

278 Elasticity, related to the speed at which a food returns to its undeformed condition  
 279 after the deforming force is removed (Civille & Szczesniak, 1973), differed ( $p < 0.05$ )

280 between formulations only at day 2 of storage, with higher values in SM sausages.  
281 Chewability did not differ ( $p > 0.05$ ) between samples at any of the analyzed periods.

282 Hardness, cohesiveness, and chewability varied throughout storage ( $p < 0.05$ ) for  
283 both sausage formulations. No patterns or similar behaviors were observed. Elasticity,  
284 on the other hand, did not vary with time ( $p > 0.05$ ). Overall, SM and normal sausages  
285 showed similar textural characteristics during storage. Such similarities are due to the  
286 formulation ingredients used, which contributed to emulsion formation and stability.  
287 Sodium chloride produces a salting-in effect, phosphates increase WHC, and starch  
288 and soy protein isolate promote gel formation and maintenance (Wang, Xu, & Zhou,  
289 2009; Kamani et al., 2019).

290

### 291 3.2. Shredded chicken

292

#### 293 3.2.1. Proximate composition and $a_w$

294 SM shredded chicken had lower ( $p < 0.05$ ) protein content and higher ( $p < 0.05$ )  
295 lipid and moisture contents than control samples (Table 3). As also observed for SM  
296 sausages, the lower protein content of SM shredded chicken stemmed from the low  
297 protein concentration of SM compared with that of normal meat (Baldi et al., 2018;  
298 Tasoniero et al., 2020). This characteristic contributed to the lower moisture content of  
299 the SM-based product, as proteins retain water. Thus, SM shredded chicken released  
300 more moisture during cooking. Brining increases WHC and reduces (but does not  
301 prevent) exudation during cooking (Barbanti & Pasquini, 2005).

302 The differences in lipid content were likely due to differences in the composition of  
303 raw materials. Mendonça (2021) and Baldi et al. (2018) did not observe differences in  
304 lipid content between SM and normal meat, but Tasoniero et al. (2020) found that SM

305 fillets had higher lipid contents than normal fillets. Furthermore, macromolecule  
 306 concentration increased with the loss of water during cooking, which possibly  
 307 intensified differences between formulations.

308

309 **Table 3.** Proximate chemical composition and water activity ( $a_w$ ) of shredded chicken  
 310 prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control).

Parameter	Control shredded chicken	SM shredded chicken
Moisture (g 100 g <sup>-1</sup> )	71.71 ± 1.67 <sup>b</sup>	72.90 ± 1.31 <sup>a</sup>
Protein (g 100 g <sup>-1</sup> )	25.46 ± 0.84 <sup>a</sup>	24.04 ± 0.90 <sup>b</sup>
Lipids (g 100 g <sup>-1</sup> )	1.51 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.18 <sup>a</sup>
Ash (g 100 g <sup>-1</sup> )	1.76 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.01 <sup>a</sup>
$a_w$	0.989 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.992 ± 0.003 <sup>a</sup>

311 Values are presented as mean ± standard deviation ( $n = 7$ ).

312 <sup>a,b</sup> Means within a row followed by different letters are significantly different by  
 313 Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

314

315 Meat products showed similar ash contents ( $p > 0.05$ ), as expected because of the  
 316 lack of differences ( $p > 0.05$ ) in ash content between SM and normal meat observed  
 317 here and in Baldi et al. (2019). The  $a_w$  of SM shredded chicken was 0.3% higher ( $p <$   
 318  $0.05$ ) than that of normal samples, in agreement with the higher moisture and lower  
 319 protein contents of the SM-based product, characteristics that promote an increase in  
 320 free-water fraction.

321

### 322 3.2.2. WOF and lipid oxidation

323 Throughout the 60-day storage period, TBARS and WOF values did not differ ( $p >$   
 324  $0.05$ ) between shredded chicken prepared from SM and normal meat (Table 4).

325 TBARS values increased ( $p < 0.05$ ) after 45 days of storage in both shredded chicken  
 326 products, whereas the WOF of control shredded chicken increased ( $p < 0.05$ ) at 15  
 327 days of storage and the WOF of SM shredded chicken increased at 45 days.

328 Al-Hijazeen, Lee, Mendonca, and Ahn (2016) found the TBARS content of freshly  
 329 cooked chicken meat to be 0.19 mg MDA kg<sup>-1</sup>. Kieling, Delarco, and Prudêncio (2019)  
 330 observed initial TBARS values of 7.52 mg MDA kg<sup>-1</sup> in cooked shredded chicken. In  
 331 both studies, however, antioxidant agents were not used. Although cooking increases  
 332 TBARS values, the use of additives that act directly or indirectly as antioxidant agents,  
 333 such as sodium erythorbate and sodium tripolyphosphate, can inhibit lipid oxidation  
 334 (Duong et al., 2008). In addition to the use of antioxidant agents in shredded chicken  
 335 formulations, the low storage temperature (-18 °C) probably contributed to inhibiting  
 336 lipid oxidation (Campo et al., 2006). TBARS and WOF values during storage were  
 337 below the detection threshold for untrained consumers (Campo et al., 2006).

338

339 **Table 4.** Lipid oxidation (TBARS) and warmed-off flavor (WOF) values of shredded  
 340 chicken prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control) during  
 341 60 days of storage at -18 °C.

Parameter	Storage period (days)	Shredded chicken	
		Control	SM
TBARS (mg malondialdehyde kg <sup>-1</sup> sample)	2	0.12 ± 0.02 <sup>aA</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>aA</sup>
	15	0.13 ± 0.04 <sup>aA</sup>	0.12 ± 0.04 <sup>aA</sup>
	45	0.17 ± 0.06 <sup>aAB</sup>	0.20 ± 0.08 <sup>aB</sup>
	60	0.19 ± 0.04 <sup>aB</sup>	0.22 ± 0.05 <sup>aB</sup>
WOF (mg malondialdehyde kg <sup>-1</sup> sample)	2	0.14 ± 0.06 <sup>aA</sup>	0.12 ± 0.05 <sup>aA</sup>
	15	0.27 ± 0.09 <sup>aB</sup>	0.19 ± 0.07 <sup>aAB</sup>
	45	0.28 ± 0.06 <sup>aB</sup>	0.28 ± 0.08 <sup>aB</sup>
	60	0.30 ± 0.08 <sup>aB</sup>	0.29 ± 0.07 <sup>aB</sup>

342 Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 7$ ).

343 <sup>a,b</sup> Means within rows followed by different lowercase letters are significantly different  
344 by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

345 <sup>A,B</sup> Means within a parameter followed by different uppercase letters are significantly  
346 different by Tukey's test ( $p < 0.05$ )

347

### 348 3.2.3. *Color and thawing weight loss*

349 No differences in  $L^*$  value ( $p > 0.05$ ) were observed between control and SM  
350 shredded chicken in any of the analyzed periods (Table 5). For control shredded  
351 chicken,  $L^*$  did not vary ( $p > 0.05$ ) throughout the 60-day storage period, whereas for  
352 the SM-based product, the  $L^*$  value decreased ( $p < 0.05$ ) at 45 days. These results  
353 agree with those obtained in previous studies on cooked chicken fillets. Orel et al.  
354 (2020) obtained an  $L^*$  value of 80.82, and Kieling, Delarco, and Prudêncio (2019)  
355 reported values ranging from 76.78 to 78.94 over 60 days of storage at 4 °C.

356 The  $a^*$  value differed ( $p < 0.05$ ) between products only at 15 days of storage, when  
357 SM samples were less red than control samples. The parameter  $b^*$  did not differ ( $p >$   
358  $0.05$ ) between control and SM shredded chicken at any of the analyzed periods, and  
359 no differences were observed throughout storage, even though SM fillets are more  
360 yellow than normal fillets (Baldi et al., 2018). Myoglobin is denatured by cooking,  
361 leading to changes in color, which may explain why both products had similar color  
362 characteristics (Faustman & Suman, 2017).

363

364 **Table 5.** Color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) and thawing weight loss (TWL) of shredded  
365 chicken prepared from spaghetti meat (SM) or normal chicken meat (control) during  
366 60 days of storage at  $-18$  °C.

Parameter	Storage period (days)	Control	SM
L*	2	78.03 ± 1.07 <sup>aA</sup>	78.55 ± 0.82 <sup>aA</sup>
	15	77.98 ± 0.51 <sup>aA</sup>	78.12 ± 1.07 <sup>aAB</sup>
	45	77.14 ± 0.87 <sup>aA</sup>	77.04 ± 1.40 <sup>aB</sup>
	60	78.01 ± 1.21 <sup>aA</sup>	78.13 ± 0.52 <sup>aAB</sup>
a*	2	1.58 ± 0.12 <sup>aB</sup>	1.48 ± 0.15 <sup>aB</sup>
	15	1.74 ± 0.13 <sup>aB</sup>	1.45 ± 0.18 <sup>bB</sup>
	45	2.10 ± 0.28 <sup>aA</sup>	2.04 ± 0.31 <sup>aA</sup>
	60	1.63 ± 0.24 <sup>aB</sup>	1.52 ± 0.19 <sup>aB</sup>
b*	2	14.33 ± 0.70 <sup>aA</sup>	14.26 ± 0.52 <sup>aA</sup>
	15	14.07 ± 0.56 <sup>aA</sup>	14.20 ± 0.30 <sup>aA</sup>
	45	14.33 ± 0.98 <sup>aA</sup>	14.31 ± 0.29 <sup>aA</sup>
	60	14.04 ± 0.61 <sup>aA</sup>	14.67 ± 0.65 <sup>aA</sup>
TWL (%)	2	NA	NA
	15	6.10 ± 1.83 <sup>bB</sup>	7.81 ± 0.91 <sup>aB</sup>
	45	6.95 ± 1.50 <sup>aB</sup>	7.68 ± 1.76 <sup>aB</sup>
	60	10.51 ± 1.62 <sup>bA</sup>	12.72 ± 1.97 <sup>aA</sup>

367 Values are expressed as mean ± standard deviation ( $n = 7$ ).

368 NA, not assessed (samples were not frozen).

369 <sup>a,b</sup> Means within rows followed by different lowercase letters are significantly different  
370 by Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

371 <sup>A,B</sup> Means within a parameter followed by different uppercase letters are significantly  
372 different by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

373

374 SM shredded chicken had higher thawing loss at 15 and 60 days of storage than  
375 the control, but no differences ( $p > 0.05$ ) were observed at 45 days of storage (Table  
376 5). For both products, thawing loss increased during storage. The thawing loss of SM  
377 samples was 1.2 times higher than that of normal samples at 60 days. Such a finding

378 can be attributed to the lower protein content and, consequently, lower WHC of SM  
379 (Baldi et al., 2018).

380

#### 381 **4. Conclusion**

382

383 The use of chicken breast meat affected by SM for the preparation of sausages and  
384 shredded chicken is a viable alternative to minimize economic losses.

385

#### 386 **Conflicts of interest**

387

388 The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication  
389 of this paper.

390

#### 391 **Acknowledgments**

392

393 The authors thank Brazilian National Council for Scientific and Technological  
394 Development (CNPq, 142064/2016-5) and CAPES (Brasil - Finance code 001) for their  
395 financial support.

396

#### 397 **References**

398 Al-Hijazeen, M., Lee, E. J., Mendonca, A. & Ahn, D. U. (2016). Effects of Tannic Acid  
399 on Lipid and Protein Oxidation, Color, and Volatiles of Raw and Cooked Chicken  
400 Breast Meat during Storage. *Antioxidants*, 5, 19.

401 <https://doi.org/10.3390/antiox5020019>.

402 Andrés, S. C., García, M. E., Zaritzky, N. E. & Califano, A. N. (2006). Storage stability

- 403 of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 72, 311-319.  
404 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.043>.
- 405 AOAC. (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). Association of Official Analytical  
406 Chemists, Washington DC, USA.
- 407 Ashadi, Y. & Anuntagool, J. (2019). Prediction on Microbiological Quality of Industrial  
408 Chicken Sausages during Distribution to Retailer vicinity Bangkok. *Journal of*  
409 *Agrobiotechnology*, 10, 46-53.  
410 [https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology/index.php/agrobiotechnology/artic](https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology/index.php/agrobiotechnology/article/view/174)  
411 [le/view/174](https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology/index.php/agrobiotechnology/article/view/174).
- 412 Baldi, G., Soglia, F., Laghi, L., Tappi, S., Rocculi, P., Tavaniello, S., et al. (2019).  
413 Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle  
414 abnormalities. *Food Research International*, 115, 369–376.  
415 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.020>.
- 416 Baldi, G., Soglia, F., Mazzoni, M., Sirri, F., Canonico, L., Babini, E., et al. (2018).  
417 Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and  
418 histological features in broilers. *Animal*, 12, 164–173.  
419 <https://doi.org/10.1017/S1751731117001069>.
- 420 Barbanti, D. & Pasquini, M. (2005). Influence of cooking conditions on cooking loss  
421 and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. *LWT - Food Science*  
422 *and Technology*, 38, 895-901. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.017>.
- 423 Bilgili, S. F. Broiler chicken myopathies: IV stringy/mushy breast. *Worthwhile*  
424 *Operational Guidelines and Suggestion*. February, (2015).  
425 <http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf>.  
426 Accessed 13 February 2019.
- 427 Bolger, Z., Brunton, N. P., Lyng, J. G. & Monahan, F. J. (2016). Quality attributes and

- 428 retention of vitamin E in reduced salt chicken sausages fortified with vitamin E.  
429 *Journal of Food Science and Technology*, 53, 3948–3959.  
430 <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2385-7>.
- 431 Brasil. (2003) *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução*  
432 *Normativa n° 26, 23 abril de 2003. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e*  
433 *Qualidade de Aves Temperadas*. Brasília, DF: Diário Oficial da União.
- 434 Brasil. (2000) *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução*  
435 *Normativa n° 4, 31 março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de*  
436 *Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de*  
437 *Linguixa e de Salsicha*. Brasília, DF: Diário Oficial da União.
- 438 Bridi, A. M. & Silva, C. A. (2009). *Avaliação da carne suína*. Londrina: Midiograf.
- 439 Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D. & Richardson, R. I.  
440 (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303-311.  
441 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.07.015>.
- 442 Civille, G. V. & Szczesniak, A. S. (1973). Guidelines to training a texture profile panel.  
443 *Journal of Texture Studies*, 4, 204-223. [https://doi.org/10.1111/j.1745-](https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1973.tb00665.x)  
444 [4603.1973.tb00665.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1973.tb00665.x).
- 445 Duong, D. Q., Crandall, P. G., Pohlman F. W., O'Bryan, C. A. Balentine, C. W., Castillo,  
446 A. (2008). Improving ground beef safety and stabilizing color during irradiation using  
447 antioxidants, reductants or TSP. *Meat Science*, 78, 359–368.  
448 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.022>.
- 449 Fang, Z., Lin, P., Ha, M., & Warner, R. D. (2019). Effects of incorporation of sugarcane  
450 fibre on the physicochemical and sensory properties of chicken sausage.  
451 *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 1036–1044.  
452 <https://doi.org/10.1111/ijfs.13894>.

- 453 Faustman, C. & Suman, S. P. (2017). The Eating Quality of Meat: I – Color. In F. Toldrá,  
454 *Lawrie's Meat Science* (pp. 329-356). United Kingdom: Woodhead Publishing.
- 455 Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R. & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid  
456 oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86-94.  
457 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.025>.
- 458 Igene, J. O. & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in  
459 warmed-over flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*,  
460 44, 1285-1290. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb06420.x>.
- 461 Kieling, D. D., Delarco, M. F. & Prudêncio, S. H. (2019). Lemongrass Extract as a  
462 Natural Preservative of Cooked and Shredded Chicken Breast during Storage.  
463 *Journal of Culinary Science & Technology*.  
464 <https://doi.org/10.1080/15428052.2019.1703235>.
- 465 Kuttappan, V. A., Hargis, B. M., & Owens, C. M. (2016). White striping and woody  
466 breast myopathies in the modern poultry industry: a review. *Poultry Science*, 95,  
467 2724-2733. <https://doi.org/10.3382/ps/pew216>.
- 468 Kamani, M. H., Meera, M. S., Bhaskar, N. & Modi, V. K. (2019). Partial and total  
469 replacement of meat by plant-based proteins in chicken sausage: evaluation of  
470 mechanical, physico-chemical and sensory characteristics. *Journal of Food Science  
471 and Technology*, 56, 2660–2669. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03754-1>.
- 472 Mendes, R., Cardoso, C., Pestana, C. (2009). Measurement of malondialdehyde in  
473 fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional  
474 spectrophotometric test. *Food Chemistry*, 112, 1038-1045.  
475 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.052>.
- 476 Mendonça, F. J. (2021). *Caracterização de parâmetros bioquímicos e estruturais de  
477 filés de frango Spaghetti meat e aplicação em produtos cárneos* (Unpublished

- 478 Doctoral dissertation). State University of Londrina.
- 479 Oliveira, M. R., Gubert, G. I., Roman S. S., Kempka, A. P. & Prestes, R. C. (2015).  
480 Meat quality of chicken breast subjected to different thawing methods. *Brazilian*  
481 *Journal of Poultry Science*, 17, 165-172. [https://doi.org/10.1590/1516-](https://doi.org/10.1590/1516-635x1702165-172)  
482 635x1702165-172.
- 483 Orel, R., Tabilo-Munizaga, G., Cepero-Betancourt, Y., Reyes-Parra, J. E., Badillo-  
484 Ortiz, A. & Pérez-Won, M. (2020). Effects of high hydrostatic pressure processing  
485 and sodium reduction on physicochemical properties, sensory quality, and  
486 microbiological shelf life of ready-to-eat chicken breasts. *LWT - Food Science and*  
487 *Technology*, 127, 109352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109352>.
- 488 Rigdon, M., Stelzleni, A. M., Bowker, B., Zhuang, H., Pringle, T. D. & Thippareddi, H.  
489 (2019). Influence of Utilizing Breast Meat Afflicted with Woody Breast Myopathy on  
490 Sausage Textural Properties. *Meat and Muscle Biology*, 3, 110-110.  
491 <https://www.iastatedigitalpress.com/mmb/article/pubid/110/>.
- 492 Shan, L., Li, Y., Wang, Q., Wang, B., Guo, L., Sun, J., et al. (2020). Profiles of gelling  
493 characteristics of myofibrillar proteins extracted from chicken breast: Effects of  
494 temperatures and phosphates. *LWT - Food Science and Technology*, 129, 109525.  
495 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109525>.
- 496 Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo, N. M. O.; Silva, F. A. P.;  
497 Ferreira, V. C. S., et al. (2017). Quality parameters of frankfurter-type sausages with  
498 partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT - Food Science and*  
499 *Technology*, 76, 320-325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>.
- 500 Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. & Dugan-Jr, L. (1960). A distillation  
501 method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal*  
502 *of the American Oil Chemists' Society*, 37, 44-48.

503 <https://doi.org/10.1007/BF02630824>.

504 Tasoniero, G., Zhuang, H., Gamble, G. R. & Bowker, B. C. (2020). Effect of spaghetti  
505 meat abnormality on broiler chicken breast meat composition and technological  
506 quality. *Poultry Science*, 99, 1724–1733. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.069>.

507 Troy, D. J., Desmond, E. M. & Buckley, D. J. (1999). Eating quality of low-fat beef  
508 burgers containing fat-replacing functional blends. *Journal of the Science of Food  
509 and Agriculture*, 79, 507-516. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-  
510 0010\(19990315\)79:4%3C507::AID-JSFA209%3E3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990315)79:4%3C507::AID-JSFA209%3E3.0.CO;2-6).

511 Wang, P., Xu, X. & Zhou, G. (2009). Effects of Meat and Phosphate Level on Water-  
512 Holding Capacity and Texture of Emulsion-Type Sausage During Storage.  
513 *Agricultural Sciences in China*, 8, 1475-1481. [https://doi.org/10.1016/S1671-  
514 2927\(08\)60361-2](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60361-2).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Filés de frango acometidos pela miopatia SM além de serem visualmente comprometidos, possuem menor teor de proteínas que filés Normais e, conseqüentemente, capacidade reduzida de reter água em sua estrutura. Assim como outras miopatias, estes filés apresentam infiltrados inflamatórios em suas fibras, mas diferentemente das outras, apresenta diminuição de estruturas como endomísio e perimísio.

Embora a comercialização na forma in natura dos filés SM seja inviável, este estudo concluiu que podem ser utilizados na elaboração de produtos cárneos como a salsicha de frango e filés de frango marinados cozidos desfiados congelados como forma de agregar valor e reduzir prejuízos econômicos.

Proposições acerca de estudos futuros englobam buscar respostas para questões como: existem fatores na criação que podem favorecer o desenvolvimento da miopatia? Se sim, quais são esses fatores e eles poderiam ser solucionados? Qual a incidência de ocorrência dessa miopatia? Há influência da linhagem nessa condição? Os produtos elaborados com filés SM são sensorialmente aceitos?

## REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Institucional Mercados**. São Paulo. 2020. Disponível em: <<https://abpa-br.org/exportacoes-de-carne-de-frango-crescem-18-em-2020/>>. Acesso em: 12 set. 2020.
- ACTON, J. C. Functionality of muscle constituents in the processing of comminuted meat products. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 18, n. 2, p. 99-121, 1982.
- A.O.A.C. Meat and meat products. In: **Official Methods of Analysis**. 15<sup>a</sup> ed. Vol. 2. Arlington, Virgínia: Association of Official Analytical Chemists, 1990. p. 931-948.
- AVERY, N. C. *et al.* Collagen cross-linking in porcine m. *longissimus lumborum*: Absence of a relationship with variation in texture at pork weight. **Meat Science**, v. 42, n. 3, p. 355-69, 1996.
- BAILEY, A. J.; SHIMOKOMAKI, M. S. Age related changes in the reducible crosslinks of collagen. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 16, n. 2, p. 86-88, 1971.
- BALDI, G. *et al.* Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle abnormalities. **Food Research International**, v. 115, p. 369-376, 2019.
- BALDI, G. *et al.* Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. **Animal**, v. 12, n. 1, p. 164-173, 2018.
- BARBANTI, D.; PASQUINI, M. Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. **LWT - Food Science and Technology**, v.38, p. 895-901, 2005.
- BARBUT, S. Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 38, n. 4, p. 355-358, 1997.
- BARBUT, S. Pale, soft, and exudative poultry meat: Reviewing ways to manage at the processing plant. **Poultry Science**, v. 88, n. 7, p. 1506-1512, 2009.
- BENDALL, J. R.; WISMER-PEDERSEN, J. Some properties of the fibrillary proteins of normal and watery pork muscle. **Journal of Food Science**, v. 24, n. 2, p. 144-457, 1962.
- BENDIXEN, E. The use of proteomics in meat science. **Meat Science**, v. 71, n. 1, p. 138-149, 2005.
- BERTRAM, H. C.; ANDRESEN, H. J.; KARLSSON, A. H. Comparative study of low-field NMR relaxation measurements and two traditional methods in the determination of water holding capacity of pork. **Meat Science**, v. 57, n. 2, p. 125-132, 2001.
- BERTRAM, H. C.; KRISTENSEN, M.; ANDRESEN, H. J. Functionality of myofibrillar

proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment - a low-field NMR study. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 249-256, 2004.

BILGILI, S. F. Broiler chicken myopathies: IV stringy/mushy breast. **Worthwhile Operational Guidelines and Suggestion**. (2015). Disponível em: <<http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2020.

BOND, J. J.; CAN, L. A.; WARNER, R. D. The effect of exercise stress, adrenaline injection and electrical stimulation on changes in quality attributes and proteins in Semimembranosus muscle of lamb. **Meat Science**, v. 68, n. 3, p. 469-477, 2004.

BOULIANNE, M.; KING, J. A. Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. **Poultry Science**, v. 74, p. 1693-1698, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 4 de 31 março de 2000 - Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha**. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2000.

BRATZLER, L. J. Determining the tenderness of meat by use of the Warner-Bratzler method. **Proceedings of the Second Annual Reciprocal Meat Conference**. National Livestock and Meat Board, Chicago, IL. AMSA, Savoy, IL, p. 117, 1949.

BREWER, M. S.; MCKEITH, F. K. Consumer-rated quality characteristics as related to purchase intent of fresh pork. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 171-174, 1999.

BRIDI, A. M.; SILVA, C. A. **Avaliação da carne suína**. Londrina: Midiograf, 2009.

CASTILLO, C. J. C. **Qualidade da Carne**. São Paulo: Editora Varela, 2006.

CORÓ, F. A. *et al.* Age related changes in poultry breast meat collagen pyridinoline and texture. **Journal of Food Biochemistry**, v. 26, n. 6, p. 533-541, 2003.

DE FREMERY, D.; POOL, M. F. The influence of *post-mortem* glycolysis on poultry tenderness. **Journal of Food Science**, v. 28, p. 173-176, 1963.

DE KANTEREWICZ, R. J. *et al.* Water-oil absorption index (WOAI): a simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 5, p. 1381-1383, 1987.

DELLA TORRE, J. C. M.; LICHTIG, J.; BERAQUET, N. J. Validação do método espectrofotométrico para quantificação do aminoácido hidroxiprolina em conservas de carne. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 1, p. 35-42, 2004.

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A. A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**, v. 78, n. 5, p. 743-746, 1999.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa. **Central de inteligência de aves e suínos - Estatísticas**. Brasília - Distrito Federal. 2020. Disponível em:

- <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>>. Acesso em: 12 set. 2020.
- EYRE, D. Collagen cross-linking amino acids. **Methods in Enzymology**, v. 144, p.115-139, 1987.
- EYRE, D. R.; KOOB, T. J.; VAN NESS, K. P. Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. **Analytical Biochemistry**, v. 137, n. 2, p. 380-388, 1984.
- FAUSTMAN, C. *Postmortem* Changes in Muscle Foods. In: KINSMAN, D. M.; KOTULA A. W.; BREIDENSTEIN, B. C. **Muscle Foods: Meat, poultry and seafood technology**. New York, NY: Chapman & Hall, 1994, p. 63-70.
- FLETCHER, D. L. Broiler breast meat color variation, pH and texture. **Poultry Science**, v. 78, n. 9, p. 1323-1327, 1999.
- FLETCHER, D. L. Poultry meat quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, n. 2, p.131-145, 2002.
- FOEGEDING, E. A.; BREKKE, C. J.; XIONG, Y. L. Gelation of Myofibrillar Protein. **Interactions of Food Proteins**, v. 18, p. 257-267, 1991
- FRATERMAN, S. *et al.* Quantitative proteomics profiling of sarcomere associates proteins in limb and extraocular muscle allotypes. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 4, p.728-737, 2007.
- FUJIMOTO, D.; MORIGUCHI, T. Pyridinoline, a non-reducible crosslink of collagen: Quantitative determination, distribution, and isolation of a crosslinked peptide. **The Journal of Biochemistry**, v. 83, n. 3, p. 863-867, 1978.
- GARCIA, R. G. *et al.* Incidence and Physical Properties of PSE Chicken Meat in a Commercial Processing Plant. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 4, p. 233-237, 2010.
- GOLL, D. E.; THOMPSON, V. F.; LI, H.; WEI, W.; CONG, J. The Calpain System. **Physiological Reviews**, v. 83, n.3, p. 731-801, 2003.
- GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e Qualidade da Carne: Fundamentos**. Viçosa: UFV, 2013. 197 p.
- GRUNERT, K. G.; BRED AHL, L.; BRUNSØ, K. Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector - a review. **Meat Science**, v. 66, n. 2, 259-272, 2004.
- GUERREIRO, L. **Dossiê Técnico - Produção de salsicha**. Associação Brasileira de Respostas Técnicas, 2006. Acesso em: 01 ago 2020. Disponível em: <<http://www.sbrc.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MzA=>>>.
- HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. **Advances in Food Research**, v. 10, p. 355-362, 1960.

HOLLUNG, K. *et al.* Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat quality. **Meat Science**, v. 77, n.1, p. 97-104, 2007.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v. 49, n. 4, p. 447-457, 1998.

HORGAN, D. J. *et al.* The relationship between animal age and the thermal stability and cross-link content of collagen from five goat muscles. **Meat Science**, v. 29, n. 3, p. 251-262, 1991.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of *postmortem* biochemical and structural changes. **Meat Science**, v. 71, n.1, p. 194-204, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema Nacional de Índices de Preços ao Consumidor – SNIPC**. Brasília – DF. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/snipc/ipca/tabelas>>. Acesso em: 09 set. 2020.

IGENE, J. O.; PEARSON, A. M. Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over flavor development in meat model systems. **Journal of Food Science**, v. 44, p. 1285-1290, 1979.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, 10<sup>a</sup> Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.

KARUNANAYAKA, D. S.; JAYASENA, D. D.; JO, C. Prevalence of pale, soft, and exudative (PSE) condition in chicken meat used for commercial meat processing and its effect on roasted chicken breast. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 58, n. 27, p. 1-8, 2016.

KIELING, D. D.; DELARCO, M. F.; PRUDÊNCIO, S. H. Lemongrass Extract as a Natural Preservative of Cooked and Shredded Chicken Breast during Storage. **Journal of Culinary Science & Technology**, 2019.

KOIYAMA, N. T. G. *et al.* Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 225-231, 2014.

KOOHMARAIE, M. *et al.* Meat Tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, v. 62, n.3, p. 345-352, 2002.

KUTTAPPAN, V. A. *et al.* Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, v. 92, n.2, p. 331-338, 2013.

KUTTAPPAN, V. A.; HARGIS, B. M.; OWENS, C. M. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2724-2733, 2016.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2005. 384p.

LEMOS, A. L. S. C.; NUNES, D. R. M.; VIANA, A. G. Optimization of the still-marinating process of chicken parts. **Meat Science**, v. 52, p. 227-234, 1999.

LI, C. *et al.* Tracing processes of rigor mortis and subsequent resolution of chicken breast muscle using a texture analyzer. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 388-391, 2010.

LIAN, T.; WANG, L.; LIU, Y. A new insight into the role of calpains in post-mortem meat tenderization in domestic animals: A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 443-454, 2013.

LIRA, G. M.; SHIMOKOMAKI, M.; GIOIELLI, L. A. Efeitos do processamento sobre a solubilização das frações protéicas (miofibrilares e colagenosa) e textura da carne-de-sol. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 35, n. 2, p. 237-244, 1999.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Human Anatomy and Physiology**. Pearson: San Francisco, 2012. 1264 p.

MCCURDY, R. D.; BARBUT, S.; QUINTON, M. Seasonal effects on pale soft exudative (PSE) occurrence in young turkey breast meat characteristics. **Poultry Science**, v. 77, n. 3-4, p. 169-174, 1996.

MCKEE, S. R.; SAMS, A. R. The effect of seasonal heat stress on *rigor* development and the incidence of pale, exudative turkey meat. **Poultry Science**, v. 76, n.11, p. 1616-1620, 1997.

MENDES, R.; CARDOSO, C.; PESTANA, C. Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. **Food Chemistry**, v. 112, p. 1038-1045, 2009.

MIR, N. A. *et al.* Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 10, p. 2997-3009, 2017.

MORIGUCHI, T.; FUJIMOTO, D. Age-related changes in the content of the collagen crosslink, pyridinoline. **Journal of Biochemistry**, v. 84, n. 4, p. 933-935, 1978.

MULLEN, A. M. *et al.* Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 3-16, 2006.

NAKAMURA, Y. N. *et al.* Developmental states of the collagen content, distribution and architecture in the pectoralis, iliobtibialis lateralis and puboischiofemoralis muscles of male Red Cornish x New Hampshire and normal broilers. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 31-40, 2004.

OBANU, Z. A. *et al.* Evaluation of the organoleptic and chemical characteristics of meat from chickens. **World review of Animal Production Rome**, v. 20, n. 1, p. 53-58, 1984.

OFFER, G.; COUSINS, T. The mechanism of drip production: Formation of two

compartments of extracellular space in muscle *Post mortem*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 58, n. 1, p. 107-116, 1992.

OFFER, G. *et al.* The Structural Basis of the Water-Holding, Appearance and Toughness of Meat and Meat Products. **Food Structure**, v. 8: n. 1, artigo n 17, 1989.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

OLIVEIRA, M. R. *et al.* Meat quality of chicken breast subjected to different thawing methods. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, p. 165-172, 2015.

OLIVO, R. *et al.* Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, p. 271-283, 2001.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P. D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v. 25, n. 289, p.44-49, 2001.

ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 279 p.

OSHIMA, I. *et al.* Comparative study of the histochemical properties, collagen content and architecture of the skeletal muscles of wild boar crossbred pigs and commercial hybrid pigs. **Meat Science**, v. 81, n. 2, p. 382-390, 2009.

OUALI, A. *et al.* Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, v.74, p.44-58, 2006.

PAREDI, G. *et al.* "Muscle to Meat" Molecular Events and Technological Transformations: The Proteomics Insight. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4275-4289, 2012.

PENFIELD, M. P.; MEYER, B. H. Changes in tenderness and collagen of beef semitendinosus muscle heated at two rates. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 150-154, 1975.

PETRACCI, M.; CAVANI, C. Muscle growth and poultry meat quality issues. **Nutrients**, v. 4, n.1, p. 1-12, 2012.

PETRACCI, M. *et al.* Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, n. 1, p. 179-183, 2014.

PETRACCI, M. *et al.* Meat quality in fast-growing broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, v. 71, 2015.

POTTER N. N.; HOTCHKISS J. H. Meat, Poultry, and Eggs. In: **Food Science**. Boston: Springer, 1995. p 316-344.

PURSLOW, P. P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat**

**Science**, v. 70, n. 3, p. 435-447, 2005.

QIAO, M. *et al.* The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. **Poultry Science**, v. 80, n. 5, p. 676-680, 2001.

REMIGNON, H. *et al.* Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibres without changing their typing in chickens. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 16, p. 95-106, 1995.

RICARD-BLUM, S. The Collagen Family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 3, n.1, p. 1-19, 2011.

RUTZ, F. *et al.* Crescimento muscular e características da qualidade das carcaças de frangos: genética, nutrição e sanidade, qual o papel de cada um? In: 18º Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2017. **Anais do XVIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IX Brasil Sul Poultry Fair**. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2017.

SHIMOKOMAKI, M. *et al.* Calpaínas e Calpastatinas. In: **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. São Paulo: Editora Varela, 2006.

SHOULDERS, M. D.; RAINES, R. T. Collagen structure and stability. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 929-958, 2009.

SKINNER, S. J. M. Rapid method for the purification of the elastin cross-links, desmosine and isodesmosine. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 229, n. 1, p. 200-204, 1982.

SMITH, D.; ACTON, J. Marination, cooking, and curing of poultry products. In: OWENS, C. M. **Poultry Meat Processing**. 2<sup>nd</sup> Ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. p. 311-336.

SOARES, A. L. *et al.* Variation in the colour of brazilian broiler breast fillet. **Proceedings International Congress of Meat Science Technology**, v. 48, n. 2, p. 540-541, 2002.

SOGLIA, F. *et al.* Evolution of proteolytic indicators during storage of broiler *wooden breast* meat. **Poultry Science**, v. 97, n. 4, p. 1448-1455, 2018.

SOGLIA, F. *et al.* Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. **Food Research International**, v. 89, n. 3, p. 1071-1076, 2016.

SOGLIA, F.; MAZZONI, M.; PETRACCI, M. Spotlight on avian pathology: current growth-related breast meat abnormalities in broilers. **Avian Pathology**, v. 48, n. 1, p. 1-3, 2019.

STRASBURG, G.; XIONG, Y. L.; CHIANG, W. Fisiologia e Química dos tecidos Musculares Comestíveis. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4<sup>a</sup> Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 719-757.

SWATLAND, H. J. **Structure and Development of meat animals and Poultry**.

Lancaster: CRC Press, 1994. 624 p.

SWATLAND, H. J. **On line evaluation of meat**. Lancaster: Technomic, 1995. 343p.

SWATLAND, H. J. How pH causes paleness or darkness in chicken meat. **Meat Science**, v. 80, n. 2, p. 396-400, 2008.

VELLEMAN, S. G.; CLARK, D. L. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. **Avian Diseases**, v. 59, n. 3 p. 410-418, 2015.

VELLEMAN, S. G. *et al.* Effect of selection for growth rate on muscle damage during turkey breast muscle development. **Poultry Science**, v. 82, n. 7, 1069-1074, 2003.

VOUTILA, L. *et al.* Thermal properties of connective tissue in breast and legmuscles of chickens and turkeys. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 5, p. 890-896, 2009.

TARLADGIS, B. G. *et al.* A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 37, p. 44-48, 1960.

TASONIERO, G. *et al.* Effect of spaghetti meat abnormality on broiler chicken breast meat composition and technological quality. **Poultry Science**, v. 99, p. 1724-1733, 2020.

TROY, D. J.; DESMOND, E. M.; BUCKLEY, D. J. Eating quality of low-fat beef burgers containing fat-replacing functional blends. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 507-516, 1999.

WILHELM, A. E *et al.* Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (*pale, soft, exudative*) meat. **Food Chemistry**, v. 119, n.3, p. 1201-1204, 2010.

WOESSNER JR., J. F. The determination of hidroxiprolin in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 93, p. 440-447, 1961.

ZAPATA, I. *et al.* Comparative proteomic characterization of the sarcoplasmic proteins in the *pectoralis major* and *supracoracoideus* breast muscles in 2 chicken genotypes. **Poultry Science**, v. 91, n. 7, 1654-1659, 2012.

ZHANG, S. X. *et al.* Functional stability of frozen normal and high pH beef. **Meat Science**, v. 69, n. 4, p. 765-772, 2005.

**ANEXOS**

**ANEXO A**

Aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina



**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

OF. CIRC. CEUA Nº 133/2017

Londrina, 01 de Novembro de 2017.

Prezado (a) professor (a)

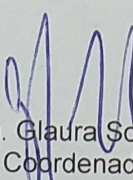
Certificamos que o projeto intitulado: **“Caracterização de parâmetros bioquímicos e estruturais de filés de frango com alterações estruturais no tecido conjuntivo intramuscular.”** protocolo CEUA nº22205.2017.93 sob a responsabilidade de **Adriana Lourenço Soares Russo**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em reunião realizada em **31/10/2017**

O objetivo do projeto é investigar, caracterizar e comparar parâmetros bioquímicos e estruturais do tecido conjuntivo intramuscular de filés de frango normais e de filés que apresentem alterações estruturais no tecido conjuntivo intramuscular. Grau de invasividade=1

Vigência do Projeto	06/11/2017 a 06/03/2020
Espécie/linhagem	Ave / Cobb
Nº de animais	500
Peso/Idade	2.200g / 42 dias
Sexo	Machos e fêmeas.
Origem	Frigorífico COPACOL
Amostras a serem coletadas	Filés de peito de frango

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente.

  
Profa. Dra. Glaucia Scantamburlo Alves Fernandes  
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a)

**Prof. (a) Dr (a). Adriana Lourenço Soares Russo**

Responsável pelo projeto

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos CCA

C/C para a Chefia do Depto. Ciência e Tecnologia de Alimentos

C/C para a Direção do CCA