



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

HUMBERTO VINÍCIUS FARIA DA CUNHA

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILÉS DE FRANGO
COM MIOPATIA WOODEN BREAST**

Londrina
2017

HUMBERTO VINÍCIUS FARIA DA CUNHA

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILÉS DE FRANGO
COM MIOPATIA WOODEN BREAST**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Adriana Lourenço
Soares Russo.

Londrina
2017

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

Cunha, Humberto Vinícius Faria .

Avaliação e caracterização de filés de frango com miopatia wooden breast. / Humberto Vinícius Faria Cunha. - Londrina, 2017.
87f. : il.

Orientador: Adriana Lourenço Soares Russo.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.
Inclui bibliografia.

1. colágeno - Tese. 2. capacidade de retenção de água - Tese. 3. Força de cisalhamento - Tese. I. Russo, Adriana Lourenço Soares. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

HUMBERTO VINÍCIUS FARIA DA CUNHA

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILÉS DE FRANGO COM
MIOPATIA WOODEN BREAST**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a. Dra. Adriana Lourenço
Soares Russo
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcos Augusto Alves da Silva
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Profa. Dra. Mayka Reghiany Pedrão
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Londrina, 12 de Maio de 2017.

Dedico este trabalho aos meus pais,
Celio e Sonia, minha irmã Elissa e
minha noiva Elaine.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Jesus Cristo e a Deus Pai pelo dom da vida e por me conceder inteligência, sabedoria e saúde para vencer os desafios diários.

À minha orientadora Prof^a Dra Adriana Lourenço Soares Russo por ter sido uma genuína docente ao me orientar neste trabalho, demonstrando virtudes como longaminidade, respeito e companheirismo.

Aos membros do Grupo de Carnes, em especial à doutoranda Talita Kato por ter reservado momentos para me acompanhar em certas análises nas quais eu não dominava inicialmente.

Aos membros do Laboratório do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL Marli e Patrícia, por terem dado suporte quando precisei.

À empresa UNITÁ pela parceria em ceder as amostras de filés para a pesquisa, em especial ao médico veterinário Moises Grespan.

Ao apoio financeiro da Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) neste período de Mestrado.

Aos meus pais, Celio e Sonia Cunha por acreditarem no meu sonho em realizar este Mestrado e darem todo apoio que precisei durante o curso.

À minha noiva Elaine por ter sido minha companheira em momentos de estresse emocional, renovando minhas forças para continuar a lutar pelos meus sonhos.

“Procure ser um homem de valor, em vez de ser um homem de sucesso”. Albert Einstein

CUNHA, Humberto Vinícius Faria da. **Avaliação e caracterização de filés de frango com miopatia *wooden breast***. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

Em 2016 o Brasil teve acréscimo de 1,78% nas exportações comparado ao ano anterior. O aumento muscular das aves tem contribuído para surgimento de diferentes tipos de miopatia, principalmente no músculo *pectoralis major*. Entre as miopatias que têm emergido e estão acarretando perdas às indústrias avícolas destaca-se o *Wooden Breast*. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar a miopatia *Wooden Breast* do músculo *pectoralis major* com relação aos parâmetros bioquímicos e estruturais em uma linha comercial de abate. Foi verificada a incidência da miopatia em 1.164 de 30.800 carcaças de frango em uma linha comercial de abate em diferentes dias e turnos, através de avaliação visual e palpação dos filés e também foram coletados dados de linhagem, idade, peso médio ao abate, densidade e sistema de criação destes animais com intuito de verificar a influência destes fatores no desenvolvimento da miopatia. Para caracterização bioquímica e estrutural foram coletados 30 filés não *Wooden Breast* e 30 filés *Wooden Breast* e analisados quanto ao pH_{24h}, cor (L*, a*, b*), comprimento, largura, altura superior e inferior, peso, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento, composição química, teor de colágeno (total e solúvel). A incidência da miopatia foi de 3,78% e não foi possível associar a miopatia com os dados de peso das aves ao abate, densidade de criação dos animais e o tipo de sistema de criação. Os filés *Wooden Breast* apresentaram-se com maior peso; maior altura superior e inferior; maior valor de cor L*, a*, b*; menor capacidade de retenção de água; maior dureza no teste de força de cisalhamento; maior porcentagem de umidade na composição centesimal; e maior quantidade de colágeno total e menor de solúvel. Outros fatores ambientais devem ser estudados para correlacionar à incidência dessa miopatia, a fim de propor ações corretivas à indústria. Traçar um diagnóstico mais objetivo para esta anormalidade é preciso e estudos envolvendo a coloração b*, tonalidade amarelada, deveriam ser considerados devido à presença da coloração acastanhada na musculatura do *p. major*, típico da miopatia *Wooden Breast*.

Palavras-chave: Colágeno. Capacidade de retenção de água. Força de cisalhamento.

CUNHA, Humberto Vinícius Faria da. **Evaluation and characterization of chicken breast meat with wooden breast myopathy**. 2017. 87 p. Dissertation (Mester's degree in Food Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

In 2016 Brazil had an increase of 1.78% in exports compared to the previous year. The poultries muscular increase has contributed to the emergence of different types of myopathy, mainly in the pectoralis major muscle. Among the myopathies which have emerged and are causing losses to the poultry industries stands out the Wooden Breast. Thus, the objective of this study was to characterize the Wooden Breast myopathy of the pectoralis major muscle in relation to the biochemical and structural in a commercial slaughter line. It was verified the incidence of Wooden Breast in 1.164 of 30.800 poultry carcass in a commercial line on different days and shifts, by fillets visual evaluation and data of lineage, age, average slaughter weight, density and breeding system was collected in order to verify the influence of these factors on the development of myopathy. For biochemical and structural characterization, 30 No Wooden Breast and 30 Wooden Breast fillets was collected and analyzed for pH_{24h}, color (L *, a *, b *), length, width, top and bottom height, weight, water retention capacity, shear force, chemical composition, collagen content (total and soluble). The incidence of myopathy was 3.78% and it was not possible to associate the myopathy with data on the weight of the birds for slaughter, stocking density and type of breeding system. None of the collected data had any significant effect on the incidence of Wooden Breast myopathy. Wooden Breast fillets presented higher weight; higher bottom and top height; higher color value L *, a *, b *; lower water holding capacity; greater hardness in the shear force test; higher percentage of humidity in the centesimal composition; and higher amount of total collagen and lower of soluble. Other environmental factors should be studied to correlate with the incidence of this myopathy in order to propose corrective actions to the industry. A more objective diagnosis for this abnormality is required and studies involving the b* coloration, yellowness, should be considered because of the presence of brownish coloration in the musculature of the p. major, typical of Wooden Breast myopathy.

Keywords: Collagen. Shear force. Water holding capacity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura do músculo esquelético.....	18
Figura 2. Ultraestrutura muscular	19
Figura 3. Esquema do sarcômero do músculo esquelético	19
Figura 4. Processo de formação, organização e estrutura do colágeno.....	22
Figura 5. Identificação das fibras colágenas.....	25
Figura 6. Filés de peito com miopatia White Striping.....	30
Figura 7. Filés de peito com miopatia Wooden Breast	32
Figura 8. Planejamento experimental para investigar Wooden Breast em uma linha comercial.....	37
Figura 9. Filé de frango (<i>p. major</i>) acometido pela miopatia <i>Wooden Breast</i> (WB) à esquerda e filé sem a miopatia à direita (NWB)	38
Figura 10. Pontos de referência para medidas das dimensões: largura, comprimento, altura superior e inferior de filés de frango com uso do paquímetro (em milímetros).....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de regressão logística e estimativa de risco para a ocorrência de Wooden Breast (WB) em filés de frangos conforme os fatores de peso da carcaça (g), densidade de criação (aves.m-2) e sistema de criação dos frangos.....	57
Tabela 2. Efeito da miopatia WB sobre o peso, dimensões de filés de frango.....	58
Tabela 3. Efeito da miopatia WB sobre a composição química aproximada e razão gordura/proteína de filés de frango	58
Tabela 4. Efeito da miopatia WB sobre o teor de colágeno total, colágeno solúvel e razão colágeno/proteína de filés de frango.	59
Tabela 5. Efeito da miopatia WB sobre o pH24h, cor, capacidade de retenção de água (CRA) e força de cisalhamento de filés de frango.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µm	Micrometro
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
CIE	Commission International de L'Eclairage
cm	Centímetro
CRA	Capacidade de Retenção de Água
DCTA	Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
DP	Desvio Padrão
FC	Força de Cisalhamento
g	Grama
h	Hora
HCl	Ácido Clorídrico
Kg	Kilograma
L	Litro
m	Metro
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
N	Newton
nm	Nanômetro
NWB	Não Wooden Breast
pH	Potencial Hidrogeniônico
p/v	Peso/ Volume
p. major	Pectoralis Major
rpm	Rotação por Minuto
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SINDIAVIPAR	Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná
UEL	Universidade Estadual de Londrina
WB	Wooden Breast

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	ESTRUTURA MUSCULAR	17
3.2	COLÁGENO	21
3.3	TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE	26
3.4	PARÂMETROS DE QUALIDADE	27
3.5	MIOPATIAS DE FILÉS DE FRANGO.....	29
3.5.1	Miopatia <i>White Striping</i>	29
3.5.2	Miopatia <i>Wooden Breast</i>	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	MATÉRIA-PRIMA E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
4.2	CLASSIFICAÇÃO DOS FILÉS EM WOODEN BREAST	37
4.3	METODOLOGIAS	38
4.3.1	Análises estruturais dos filés	38
4.3.2	Análises físico-químicas	39
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO	43
6	REFERÊNCIAS	60
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
ANEXO A – Ofício Circular CEUA nº 41/2016 – Comissão de Ética no Uso de Animais		
		71
ANEXO B – Normas para submissão de artigos da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB).		
		73

1 INTRODUÇÃO

Em 2016, a indústria avícola brasileira, segundo o Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná (SINDIAVIPAR), exportou aproximadamente 4,4 bilhões de toneladas de carne de frango, arrecadando US\$ 6,8 bilhões, sendo o Paraná o Estado com maior representatividade do país (SINDIAVIPAR, 2017). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), 57,7% são exportados como cortes e 32,6% como carcaças inteiras (ABPA, 2017).

O frango brasileiro é reconhecido internacionalmente e um dos produtos nacionais mais concorridos do mercado mundial. Isto é possível devido à combinação da tecnologia de ambiência, genética, alimentação à base de milho e soja produzidos no Brasil e o sistema de integração produtores – frigoríficos.

O melhoramento genético está diretamente relacionado com grande aumento muscular das aves durante o crescimento, principalmente no músculo *pectoralis major*, resultando em modificações bioquímicas e histológicas dos tecidos musculares que levam a diferentes tipos de miopatias (BARBUT et al., 2008; PETRACCI; CAVANI, 2012).

A aparência é o principal atributo de qualidade que interfere na decisão de compra de um produto cárneo. Qualquer desvio em relação à aparência normal irá resultar na rejeição do produto pelo consumidor, independente se outros atributos estão com qualidade superior (KUTTAPPAN et al., 2013a).

As principais miopatias que têm emergido e que estão aumentando as preocupações da indústria da carne de frango são a condição *White Striping* (WS) (KUTTAPPAN et al., 2009) e *Wooden Breast* (WB) (SIHVO et al., 2014). A miopatia WB foi descrita pela primeira vez por Sihvo, Immonen e Puolanne (2013) em músculos *p. major* nos quais apresentavam endurecimento, exsudato estéril, pontos hemorrágicos sobre a superfície do músculo e palidez.

A etiologia desta condição ainda não está totalmente elucidada pela comunidade científica, mas recentes estudos conduzidos em outras patologias miodegenerativas apontam que a causa é a rápida taxa de crescimento muscular, bem como aumento do peso final dos frangos (SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013).

A indústria avícola está sendo forçada a rejeitar estes produtos defeituosos por causa da baixa aceitação pelo consumidor. Portanto, torna-se importante

estudar os fatores que podem contribuir para formação do *Wooden Breast* e caracterizar esta miopatia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar filés de frango com miopatia *Wooden Breast* com relação aos parâmetros bioquímicos e estruturais em uma linha comercial de abate.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a incidência de filés de frango com a miopatia *Wooden Breast* em um abatedouro comercial.
- Correlacionar dados de criação dos animais como peso médio ao abate, densidade e sistema de criação (convencional e *dark house*) com a incidência da miopatia *Wooden Breast*.
- Avaliar pH_{24h}, cor, comprimento, largura, altura superior, altura inferior, peso, Capacidade de Retenção de Água (CRA) e força de cisalhamento dos filés de frango com miopatia *Wooden Breast*.
- Analisar a composição química e quantificar o teor de colágeno total e solúvel dos filés com miopatia *Wooden Breast*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ESTRUTURA MUSCULAR

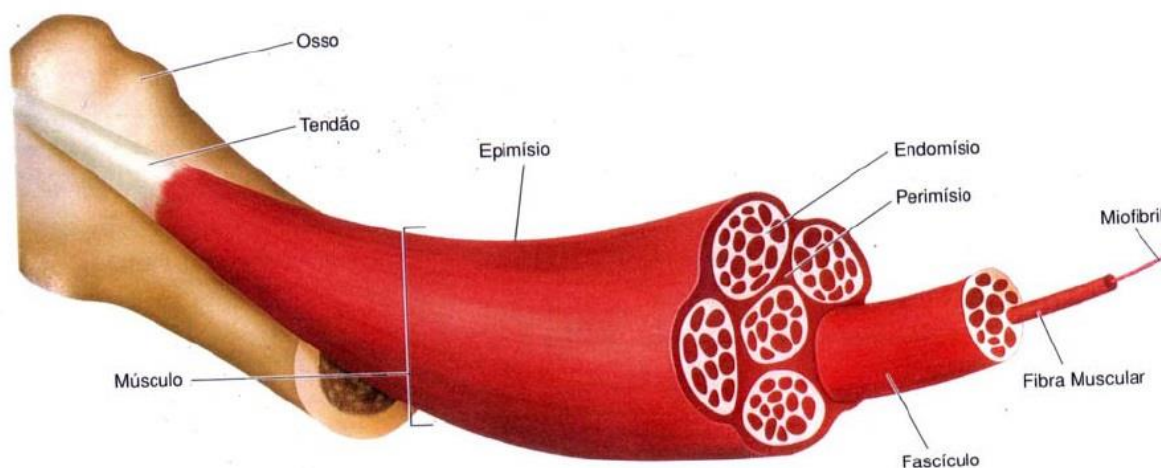
A carne é composta basicamente de tecidos adiposo, conectivo, muscular e nervoso e suas propriedades e quantidades são responsáveis pela qualidade da carne (GUIMARÃES; ADELL, 1995).

Determinar a composição química exata da carne é um desafio e está intimamente relacionada com a espécie animal e pode variar dependendo da raça, sexo, idade e a zona anatômica em questão. Todavia, os componentes majoritários da carne são água (65 – 80%), proteínas (16 – 22%), gordura (3 – 13%) e cinzas, embora existam pequenas quantidades de outras substâncias como as nitrogenadas não proteicas (nucleotídeos, creatina, etc.), carboidratos, ácido láctico e vitaminas (ORDÓÑEZ et al., 2005). Por outro lado, o padrão estrutural é comum para todos os músculos (LAWRIE, 2005).

O sistema muscular é constituído por hierarquia, como ilustrado na Figura 1. Circundando todo o músculo, existe uma camada de tecido conjuntivo conhecido como epimísio, cuja de sua superfície interna parte septos de tecido conjuntivo para dentro do músculo, separando as fibras musculares em feixes. Esses septos constituem o perimísio, que contém vasos sanguíneos e nervos. A partir do perimísio forma-se uma fina rede de tecido conjuntivo que envolve cada fibra muscular, chamada de endomísio (LAWRIE, 2005).

A unidade de organização estrutural do músculo é denominada de fibra muscular. As fibras são células longas, estreitas, multinucleadas que podem estender-se de uma extremidade para outra e são responsáveis pela forma estriada, característica do músculo (SWATLAND, 1994; ORDÓÑEZ et al., 2005; FRANDSON; WILKE; FAILS, 2009; TORTORA; DERRICKSON, 2012).

Figura 1. Estrutura do músculo esquelético.

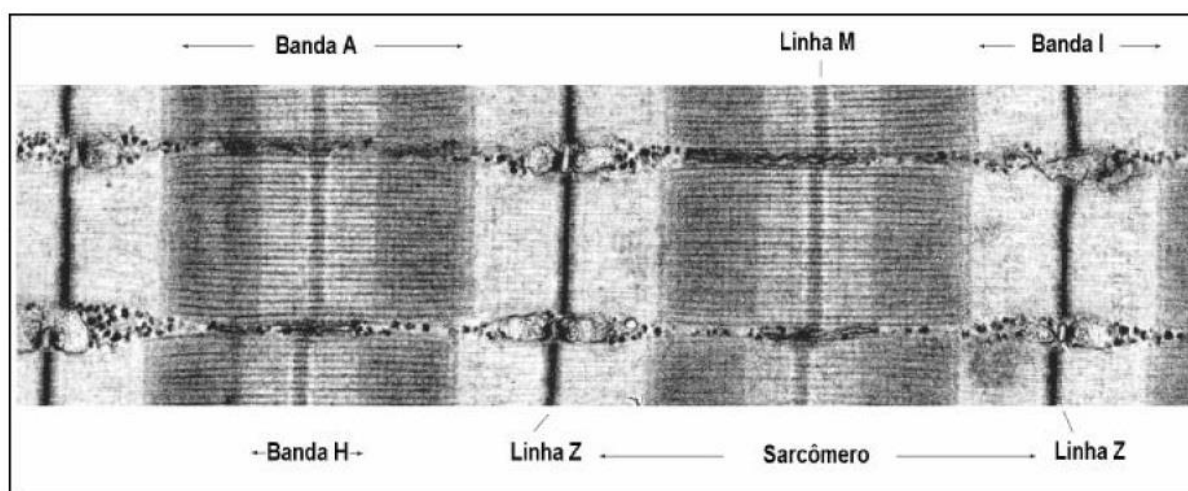


Fonte: BAYNES; DOMINICZAK, 2000.

As fibras musculares são constituídas por uma membrana externa, denominada sarcolema, e de um citoplasma, denominado sarcoplasma (TORTORA, DERRICKSON, 2012), podendo atingir o comprimento de 34 cm, embora tenham somente 10 a 100 μm de diâmetro (LAWRIE, 2005).

As miofibrilas possuem estruturas que variam de regiões claras a escuras, conhecidas como banda I e A, respectivamente (Figura 2). No centro da banda I está localizada a linha Z, de coloração mais escura, enquanto que no centro da banda A está a banda H, de coloração mais clara e com uma linha M central (BAYNES, DOMINICZAK, 2000).

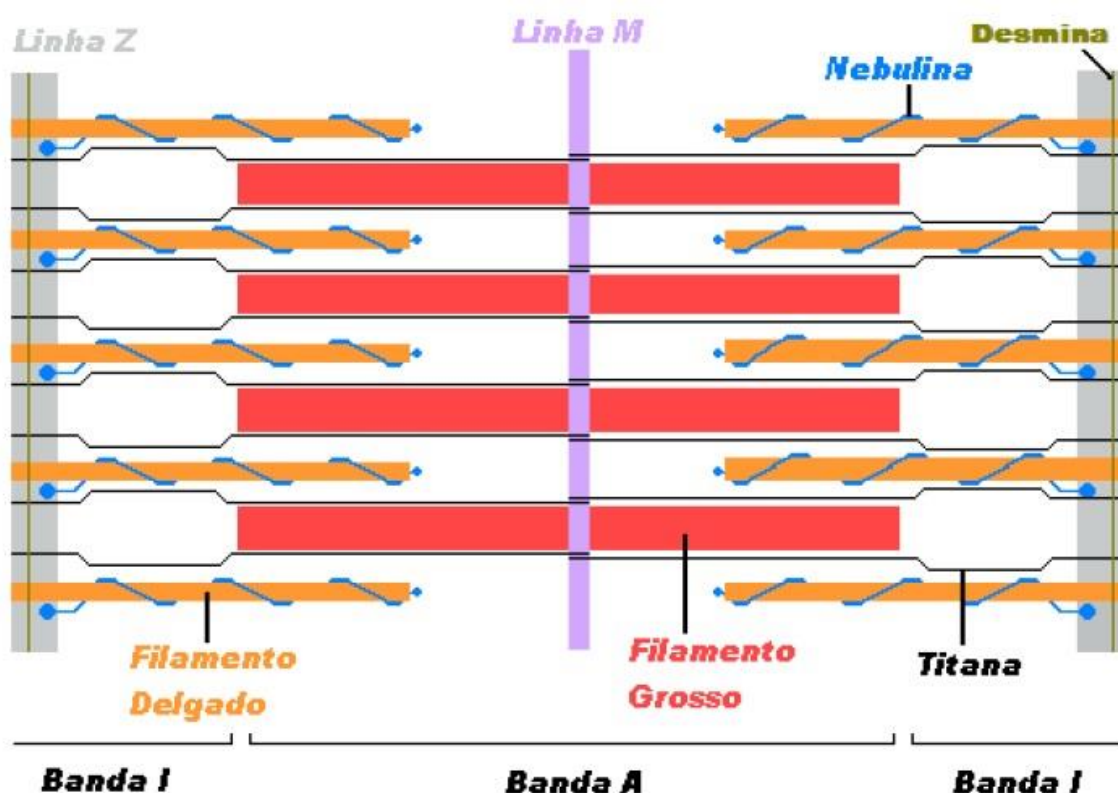
Figura 2. Ultraestrutura do músculo.



Fonte: CRAIG (2008, adaptado).

O sarcômero é a unidade funcional básica do músculo estriado esquelético. Seus principais componentes são os filamentos delgados de actina anexados lateralmente pelas linhas Z e centralmente pela linha M, contendo ligações cruzadas de filamentos grossos de miosina de acordo a Figura 3. As linhas Z representam as fronteiras laterais do sarcômero, onde os filamentos finos denominados titana e nebulina se encontram, que auxiliam na manutenção da homeostase muscular (CLARK et al., 2002).

Figura 3. Esquema representativo do sarcômero e algumas de suas proteínas estruturais: nebulina, titana, desmina.



Fonte: Adaptado de SHIMOKOMAKI et al. (2006).

Os filamentos finos se compõem basicamente da proteína actina, têm 5nm de espessura e estendem-se por cerca de 1 μ m em cada direção a partir da linha Z, constituindo a banda I. Na linha Z cada filamento de actina é contínuo com quatro delgados filamentos divergentes que correm obliquamente através da linha Z para

um dos filamentos de actina do outro lado formando um padrão característico em ziguezague (PARDI et al., 1993; LAWRIE, 2005; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os filamentos de actina penetram na banda A onde se interrelacionam com os filamentos de miosina, de modo que em cortes transversais na extremidade da banda A pode-se observar um arranjo ordenado onde seis filamentos de actina estão regularmente espaçados ao redor de um filamento de miosina (PARDI et al., 1993; LAWRIE, 2005; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Durante a contração muscular as cabeças de miosina formam pontes com os filamentos de actina, originando um complexo conhecido como actomiosina. A formação de actomiosina proporciona um estado de rigidez e de relativa inextensibilidade muscular (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A maioria das substâncias nitrogenadas da carne é constituída pelas proteínas que são componentes mais abundantes, superados somente pela água, e alguns casos pela gordura. As proteínas da carne são muito similares em todos os animais de abate podendo ser classificadas, segundo sua solubilidade, em três grandes grupos: proteínas sarcoplasmáticas, miofibrilares e insolúveis (ORDÓÑEZ et al., 2005).

As proteínas sarcoplasmáticas são solúveis em água ou em tampões de pouca força iônica (igual ou menor do que 0,1 em pH neutro), constituindo cerca de 30 a 35% do total das proteínas. Pertencem a esse grupo dois principais tipos de proteínas: um composto de enzimas, e outro por substâncias que participam na cor da carne, como a mioglobina e pequenas quantidades de hemoglobina, sendo a maior parte desta eliminada durante a sangria (ORDÓÑEZ et al., 2005).

As proteínas miofibrilares são as mais abundantes, constituindo de 65 a 75% do total das proteínas musculares. Como representante deste grupo tem-se em maior proporção a miosina (com 50-58% do total) e a actina (15-20%). Em menores quantidades a tropomiosina, troponina, proteína M, proteína C e outras proteínas. A maioria das proteínas miofibrilares são solúveis em água, mesmo sendo necessário uma elevada força iônica para romper as miofibrilas (PARDI et al., 1993; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Proteínas insolúveis ou proteínas do estroma constituem as fibras extracelulares de colágeno que, por sua vez, fazem parte do tecido conectivo típico que recobre as fibras e os feixes musculares (ORDÓÑEZ et al., 2005).

3.2 COLÁGENO

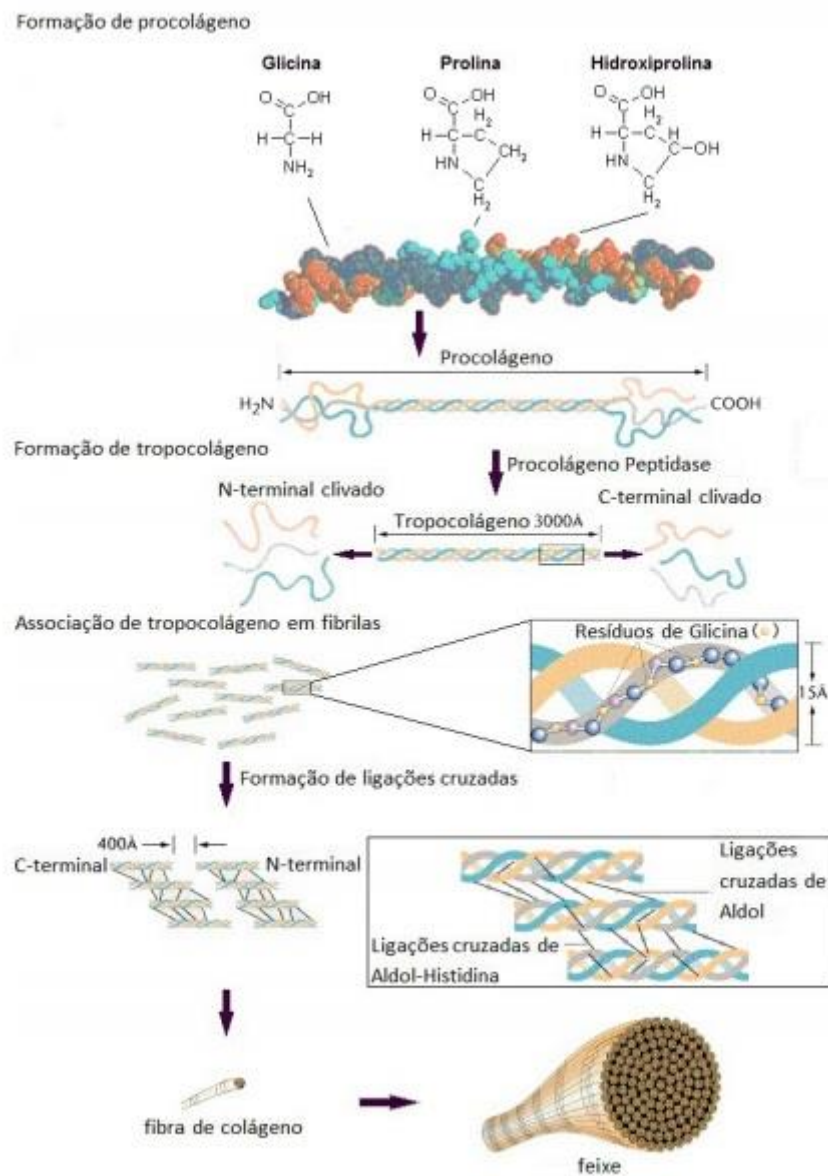
O colágeno é uma proteína fibrosa encontrada em todo o reino animal, contém cadeias peptídicas dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina. No geral, contém 33% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). Essas cadeias são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura (DAMORANAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A quantificação do colágeno requer sua extração da carne, que é obtida pela sua solubilização em solução ácida e aquecimento prolongado. Após a solubilização do colágeno, este é hidrolisado para liberar a hidroxiprolina que, uma vez na forma livre, pode ser quantificada (RAMOS; GOMIDE, 2012). A hidroxiprolina é o aminoácido responsável por indicar o teor de colágeno, pois a mesma está presente somente em proteínas colagenosas, além de ser responsável pela estabilidade térmica da molécula e pela absorção de água (RICARD-BLUM, 2011). Assim, o teor de colágeno pode ser estimado determinando o teor do aminoácido hidroxiprolina (RICARD-BLUM, 2011; RAMOS; GOMIDE, 2012).

As proteínas colagenosas formam agregados supramoleculares (fibrilas, filamentos ou redes), sozinhas ou em conjunto com outras matrizes extracelulares. Sua principal função é contribuir com a integridade estrutural da matriz extracelular ou ajudar a fixar células na matriz. O colágeno apresenta propriedades mecânicas singulares, e é quimicamente inerte (WOLF, 2007; MORETTI, 2009).

O processo de formação, organização e estrutura da molécula de colágeno está apresentado na Figura 4.

Figura 4. Processo de formação, organização e estrutura do colágeno.



Fonte: DAMODARAN et al., *apud* SAEIDI (2009, adaptado).

O processo de formação do colágeno ocorre principalmente durante o preparo da regeneração e do desenvolvimento do tecido embrionário. As moléculas de colágeno são secretadas pelos fibroblastos na forma de procolágeno solúvel, que é ladeado por duas estruturas globulares de peptídeos (CANTY; KADLER, 2005). O procolágeno é secretado dentro das vesículas, formado no aparelho de Golgi e, em sequência, é secretado para a matriz extracelular. Na matriz extracelular, ocorre a ação das C- e N-peptidases, para clivar as duas estruturas globulares ligadas às

extremidades do procolágeno. A ação dessas enzimas é necessária para iniciar o processo de fibrilogênese (produção de colágeno), pois essas estruturas globulares ligadas ao procolágeno ocupam um grande espaço em volta da molécula. Assim, é necessário que ocorra o processo de clivagem para formação do tropocolágeno, que começa a se unir com outras moléculas de tropocolágeno, formando as fibrilas (NEKLYUDOV, 2003). As moléculas de tropocolágeno unem-se na forma de conformação torsa por meio de associações lado a lado, estabilizadas primeiramente pelas interações hidrofóbicas e eletrostáticas (CAMPBELL, 2000).

As ligações cruzadas intermoleculares entre as cadeias de colágeno resultam da interação entre os grupos aldeídos e grupos aminos. Essas ligações cruzadas fornecem a estabilidade e a força tensora necessária à estrutura supramolecular. Existem quatro resíduos-chave envolvidos no início das ligações das cadeias do tropocolágeno: dois resíduos de lisina ou hidroxilisina de peptídeos, contendo o N-terminal; e dois resíduos de lisina ou hidroxilisina de peptídeos, contendo o C-terminal. O arranjo cabeça-cauda-torso das moléculas de tropocolágeno permite a interação entre os peptídeos contendo o N-terminal com os peptídeos adjacentes contendo o C-terminal (CAMPBELL, 2000).

O enrolamento da hélice tríplice fornece uma grande resistência às forças de tensão, sem nenhuma capacidade para o estriamento. Assim, o colágeno apresenta uma resistência mecânica que é aumentada pelo enrolamento helicoidal de múltiplos seguimentos em uma super-hélice, de uma forma muito parecida a cordões enrolados entre si e sobre si mesmo, para formar uma corda mais resistente (DARMORANAN, PARKIN, FENNEMA, 2010; CAMPBELL, 2000).

Os aminoácidos hidroxilisina e hidroxiprolina, presentes na estrutura do colágeno, não são sintetizados, mas são formados por hidroxilação da prolina e lisina, respectivamente, que se inicia nos ribossomos durante a tradução do mRNA do colágeno. Assim, o processo de hidroxilação é concluído após a formação da estrutura linear (NEKLYUDOV, 2003). As fibrilas de colágeno são compostas de agregados de moléculas de colágeno ao longo de um eixo paralelo, mas cujas extremidades são igualmente sobrepostas para produzir bandas de 70 nm. O conjunto de fibrilas forma as fibras de colágeno, que se organizam em feixes (LINDEN; LORIET, 2000).

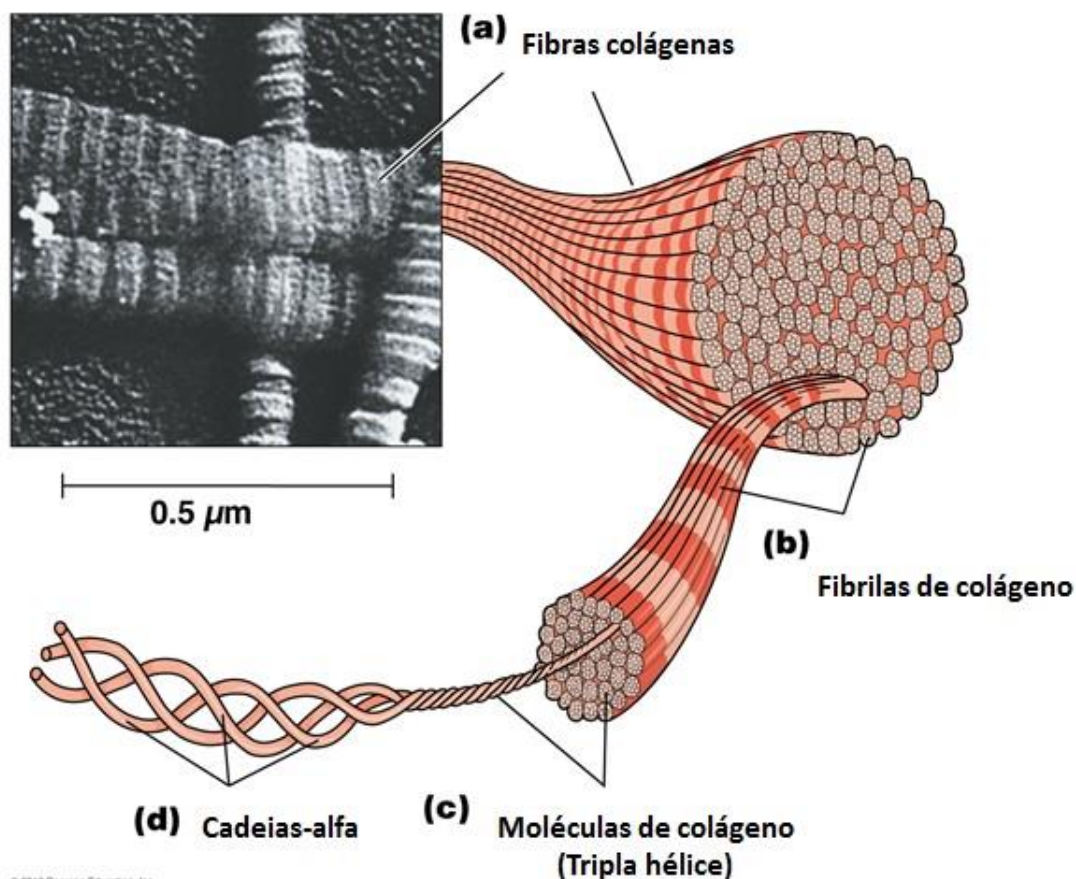
O colágeno apresenta estrutura molecular relativamente simples e é insolúvel em água, em virtude da grande concentração de aminoácidos hidrofóbicos, quer no

interior da proteína, quer na superfície. O colágeno representa uma exceção à regra de que os grupos hidrofóbicos precisam estar escondidos no interior da molécula proteica. O núcleo hidrofóbico, portanto, contribui menos para a estabilidade estrutural da molécula, enquanto as ligações covalentes assumem um papel especialmente importante (DAMORANAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os tipos de colágeno são denominados por algarismos romanos, que vão do tipo I até o tipo XXVIII (RICARD-BLUM, 2011). Os colágenos dos tipos I, III, V, pertencem ao grupo dos colágenos estriados, e pequenas quantidades de colágeno dos tipos mencionados estão associadas ao endomísio. Um estudo realizado por microscopia eletrônica mostrou bandas repetidas a cada 64-70 nm, resultantes de arranjos alinhados lado a lado das moléculas de colágeno (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

O colágeno do tipo I é considerado o principal e está presente em grande quantidade nos tecidos conjuntivos de mamíferos (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002; RICARD-BLUM, 2011), presente na pele (80% da base seca da pele adulta), tendões (90% da base seca), ligamentos e ossos (90% da matéria seca) (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002). Neste tipo de colágeno, uma cadeia de polipeptídeos comum apresenta aproximadamente 1000 resíduos de aminoácidos com uma sequência repetida ao longo da cadeia de $(\text{Gly} - \text{X} - \text{Y})_n$, o resíduo X, é quase sempre a prolina, e o Y hidroxiprolina ou hidroxilisina (PEARSON et al., 1985; DAMORANAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os outros aminoácidos são formados por hidroxilação pós-translacional de prolina e lisina, através da prolil hidroxilase e pela lisil hidroxilase, respectivamente. As fibras colágenas (Figura 5) têm extrema importância para área de carnes e produtos cárneos, pois esta molécula afeta a estrutura do músculo, sendo inversamente proporcional à maciez da carne (BAILEY, 1989).

Figura 5. Identificação das fibras colágenas. Onde (a) são as fibras de colágeno (à esquerda microscopia eletrônica); (b) fibrilas de colágeno; (c) moléculas de colágeno (tripla hélice); e (d) cadeias-alfa.



Fonte: <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-17/CB17.html>.

O colágeno do tipo IV, apresenta uma forma de folha que se forma a partir das diferenças na sequência de aminoácidos que previnem a associação lado a lado observado no grupo de colágeno estriado (STRASBURG, XIONG, CHIANG, 2010).

Há evidências de que no estágio *post mortem* ocorram transformações no tecido conectivo e estas sejam decorrentes da ação de proteases lisossomais (catepsinas) que atuam na degradação do colágeno durante a maturação (DUTSON, 1983; LAWRIE, 2005).

Em animais jovens a síntese de grande quantidade de colágeno novo é mais rápida e neste existem poucas ligações cruzadas, aumentando a solubilidade da molécula de colágeno, favorecendo a maciez da carne (BAILEY; SIMS, 1977). Coró et al. (2002) encontraram uma correlação positiva entre idade de abate de frangos e

o número de ligações cruzadas termoestáveis (piridinolina) de colágeno, responsáveis pelo aumento da dureza de acordo com o avanço da idade do animal.

3.3 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE

O músculo vivo é um tecido altamente especializado, capaz de converter energia química em mecânica durante sua contração. A habilidade de contrair e relaxar é perdida quando o músculo é convertido em carne (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007).

Diversas reações bioquímicas ocorrem após a morte do animal, determinando a qualidade final da carne. Após a morte e, por consequência, com a falência sanguínea, o aporte de oxigênio e o controle nervoso deixam de chegar até a musculatura. O músculo passa a utilizar, então, a via anaeróbica para obter energia, através de um processo contrátil desorganizado; nesse processo há transformação de glicogênio em glicose e posterior glicólise, formando ácido láctico. (BENDALL, 1973).

Os produtos de metabolismo anaeróbico (glicólise) não podem ser removidos e se acumulam no tecido, o que resulta em acúmulo de ácido láctico, provocando uma diminuição gradual do pH do tecido de 7,0 para 5,6 (OLIVO et al., 2001). O acúmulo de ácido láctico e consequente queda do pH muscular dependem da concentração de glicogênio muscular no momento do abate (SOARES et al., 2002).

Além do declínio do pH e exaustão do ATP, de acordo com Bonfim (2004), ocorre um aumento na dureza do músculo. Esse fenômeno, o *rigor mortis*, acontece devido à formação de ligações permanentes entre os filamentos de actina e miosina. Segundo Olivo e Olivo (2006), o músculo torna-se carne somente após a instalação do *rigor mortis*.

Após o estabelecimento do *rigor mortis* começa o processo de resolução do rigor (maturação da carne). A resolução do rigor é caracterizada pelo amaciamento progressivo pela ação de enzimas que hidrolisam as proteínas musculares, provocando o desprendimento dos filamentos de actina da linha Z. As principais mudanças que ocorrem nas células durante a resolução do rigor são: degradação da linha Z, desaparecimento da troponina T e degradação das proteínas estruturais desmina, titana e nebulina. A quebra destas proteínas promove o enfraquecimento da linha Z (KOOMAHRAIE, 1988; KOOMAHRAIE; GEESINK, 2006).

Há diversas proteases no músculo esquelético, mas até agora apenas as calpaínas e certas enzimas lisossomais são responsáveis pela degradação de proteínas miofibrilares (KOOHMARAIE, 1992).

3.4 PARÂMETROS DE QUALIDADE

Segundo Felício (1999), o consumidor bem informado, ao adquirir carne, pressupõe que ela seja proveniente de animais saudáveis, abatidos e processados higienicamente, e que esta condição tenha sido objeto de verificação rigorosa. Deve ser também rica em nutrientes necessários para uma boa saúde, ter uma aparência típica da espécie a que pertence, e ser palatável à mesa.

A qualidade da carne é avaliada pelos atributos sensoriais, que são os de maior interesse do consumidor (cor, maciez, suculência, sabor e odor), tecnológicos (pH e capacidade de retenção de água), nutricionais (quantidade de gordura, perfil de ácidos graxos e oxidação lipídica) (FELÍCIO, 1997), como também, pelas características de produção, processamento e comercialização (LUCHIARI FILHO, 2006).

Melhorias na qualidade da carne podem resultar em aumento no consumo, melhoria no valor dos produtos e, conseqüentemente, no aumento de lucro para todos os segmentos da indústria da carne (HAMILTON et al., 2003).

Dentre os fatores envolvidos na variação da maciez, são quatro os considerados mais importantes: proteólise *post-mortem*, gordura intramuscular (marmorização), tecido conjuntivo e estado de contração do músculo. Esses fatores também contribuem para diferenciação da maciez entre diferentes músculos na mesma carcaça (BELEW et al., 2002).

A cor é um dos atributos mais importantes com relação à qualidade, visto que normalmente o consumidor relaciona a cor com o frescor e a qualidade do produto como um todo (ANADÓN, 2002). Este parâmetro pode ser influenciado por diversos fatores como enzimas, dietas, idade do animal, condições pré e pós abate (LARA, et al., 2002; MUCHENJE et al., 2009; OBA, et al., 2009; SIMÕES et al., 2009). As medidas de cor são rotineiramente realizadas utilizando o sistema da Comissão Internacional de Iluminação (Commission International de l'Eclairage – CIE) (COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE, 1976). As três coordenadas fundamentais são L*, a* e b*. O valor de L* mede a luminosidade e é a medida de

luz refletida (branco = 100; preto = 0); a^* mede a variação entre verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) e b^* variação entre azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos).

O valor de L^* é o principal parâmetro utilizado para determinação da cor na carne de frango. Segundo Olivo; Guarnieri; Shimokomaki (2001), para as carnes de frango e peru, a faixa ideal de luminosidade deve estar em torno de 50.

A cor observada na superfície das carnes é resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros importantes componentes presentes, como as fibras musculares e suas proteínas, bem como pela quantidade de líquido livre presente (OLIVO; GUARNIERI; SHIMOKOMAKI, 2001; SWATLAND, 2008). Segundo os autores, quanto maior o grau de desnaturação proteica, menos luz é transmitida através das fibras e mais luz acaba sendo dispersa, resultando na palidez da carne.

A textura da carne é referida normalmente como maciez. É o atributo mais importante da qualidade e que influencia na satisfação do consumidor em relação à palatabilidade (GREASER, PEARSON, 2001). A maciez da carne é definida como a sua resistência ao cisalhamento e, embora sendo uma característica sensorial, métodos analíticos mecânicos são comumente usados para fornecer medidas de maciez (CHRYSTALL, 1994).

Miller et al. (2001) demonstraram que o consumidor é capaz de discernir variações de maciez na carne e está disposto a pagar mais por carnes que apresentem melhores características.

Estima-se que o processo de amaciamento começa logo após o abate, podendo variar entre espécies (VEISETH et al., 2001). O grau de maciez da carne geralmente está relacionado a três categorias de proteínas do músculo: do tecido conjuntivo, do sarcoplasma e da miofibrila. O grau de contração das miofibrilas, o tipo de músculo e a temperatura de cozimento têm importante contribuição nessa maciez (LAWRIE, 2005).

As proteínas do tecido conjuntivo, principalmente colágeno e elastina, formam uma complexa rede entre as fibras musculares e são importantes para a textura da carne (SWATLAND, 1994).

As proteínas sarcoplasmáticas (enzimas glicolíticas, creatina quinase e mioglobina) são solúveis em água e contribuem pouco para a textura da carne (LAWRIE, 2005). Segundo Koohmaraie e Geesink (2006), o enfraquecimento da

estrutura miofibrilar decorrente da degradação *post-mortem* de proteínas miofibrilares é o principal fator contribuinte para o amaciamento da carne.

A Capacidade de Retenção de Água (CRA) é definida como a capacidade em que a carne tem de reter sua umidade ou água durante a aplicação de forças externas, como corte, aquecimento, trituração ou prensagem (ZHANG *et al.*, 2005). No entanto, durante a aplicação de uma força suave de qualquer um destes tratamentos, há certa perda de umidade, em razão de uma parte da água da carne encontrar-se na forma livre. A CRA é uma propriedade de total importância, afetando de forma positiva ou negativa, tanto a qualidade da carne consumida *in natura* quanto àquela destinada à industrialização (OLIVO *et al.*, 2001).

A maior parte da água no músculo está presente nas miofibrilas, nos espaços entre os filamentos grossos de miosina e os filamentos finos de actina (LAWRIE, 2005) e é mantida entre estes filamentos por forças capilares (OFFER; TRINICK, 1983).

Durante a transformação do músculo em carne, o lactato acumula-se no tecido e leva à redução do seu pH. Quando o pH atinge o ponto isoelétrico (pI) da maioria das proteínas, em especial da miosina (pI = 5,4), a carga líquida das proteínas torna-se igual a zero, significando que o número de cargas positivas e negativas é equivalente. Estes grupos positivos e negativos das proteínas são atraídos um pelo outro, fazendo com que as proteínas agreguem-se mais, resultando em uma redução na interação entre água e proteínas (OFFER, 1991). Em caso de carnes PSE, devido à desnaturação das proteínas, principalmente das miofibrilares, há a maior perda de água, o que prejudica a qualidade da carne e reflete-se no comportamento de sua textura (BENDAL; WISSMER-PERDESEN, 1962; OFFER, 1991).

3.5 MIOPATIAS DE FILÉS DE FRANGO

3.5.1 Miopatia *White Striping*

Nos últimos anos, o aumento da demanda de uma carne de frango mais barata tem impulsionado uma seleção genética intensiva neste setor. A carcaça do frango está duas vezes mais pesada e com aves abatidas na metade da idade de 50 anos atrás (RUSSO *et al.*, 2015). Esta rápida taxa de crescimento está associada ao

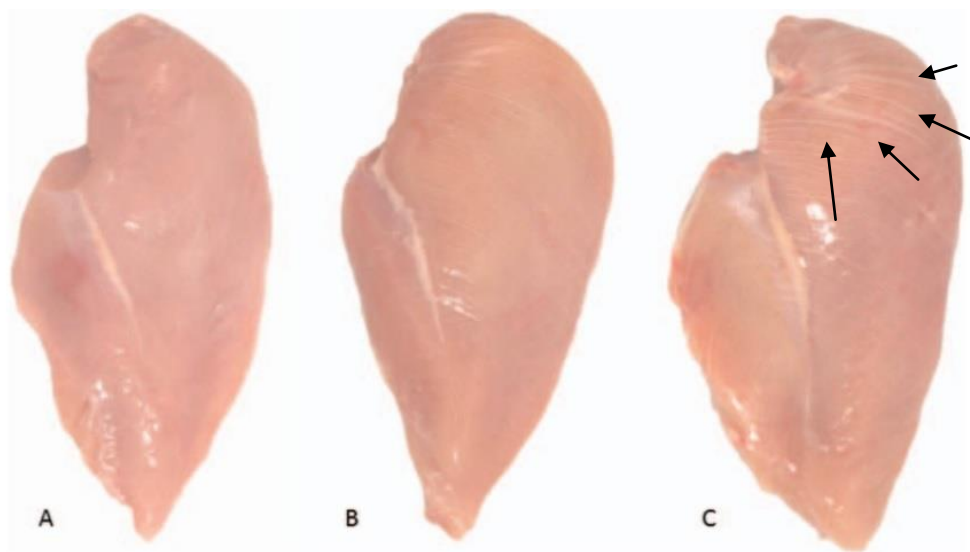
aparecimento de miopatias idiopáticas e induzidas pelo estresse como a miopatia peitoral profunda, *PSE-like*, *White Striping* (WS) e *Wooden Breast* (WB) (PETRACCI; CAVANI, 2012).

A anormalidade WS é descrita como uma alteração dos músculos do peito e coxa, caracterizada pela presença de estrias brancas paralelas à direção das fibras musculares. Esta condição está se tornando cada vez mais importante em carne de frangos, ocorrendo principalmente em aves mais pesadas (KUTTAPPAN et al., 2013a).

Inicia frequentemente na parte cranial do filé próximo do ponto da ligação da asa. Baseada na avaliação visual da intensidade das estrias brancas, os filés podem ser classificados em normal, moderado e severo (Figura 6). À medida que a condição piora, as listras tornam-se visíveis ao longo do filé e podem tornar-se mais largas na aparência (OWENS; VIEIRA, 2012; KUTTAPPAN et al., 2013a).

Kuttappan et al. (2012c) relataram que o WS é uma condição que poderia reduzir a aceitação do consumidor e intenção de compra para filés de frango desossados e sem pele.

Figura 6. Amostras de filés de peitos: A) normal (sem estrias brancas); B) moderado (com estrias brancas); e C) severo (estrias brancas mais grossas). Observe a proeminência de estrias brancas próximo à inserção do peito na asa (setas).



Fonte: KUTTAPPAN et al., 2012c adaptado.

O WS está associado com aves mais pesadas e de crescimento acelerado (KUTTAPPAN et al., 2012a; KUTTAPPAN et al., 2013b). Kuttappan et al. (2012a) também reportaram que a ocorrência de WS grau severo está associada com maior teor de gordura nos filés de peito de frango de aves.

Petracci et al. (2014) observaram que, na composição centesimal, o teor de proteína diminuiu à medida que o grau de WS aumentou, de grupos normais para graves, respectivamente (22,9; 22,2; 20,9%, $P < 0,001$), enquanto a tendência inversa foi observada para lipídios (0,78; 1,46; 2,53%, $P < 0,001$) e colágeno (1,30; 1,37; 1,43%, $P < 0,001$). A anormalidade WS não mostrou qualquer efeito no teor de umidade no filé de peito. Estes resultados são consistentes com Kuttappan et al. (2012a), que verificaram que os filés com listras brancas apresentaram maior teor de gordura e menor teor de proteína quando comparados com os filés normais, mas não houve diferenças entre os filés moderados e normais.

Assim, estas modificações explicam o aumento de lipídios intramusculares (por exemplo, lipidose) assim como o maior teor de colágeno (por exemplo, fibrose) em filés afetados por WS, enquanto que um nível mais baixo de proteína pode ser um efeito indireto do aumento do acúmulo de lipídios intramusculares (PETRACCI et al., 2014).

Muitos fatores podem estar envolvidos em favorecer o desenvolvimento dessa anomalia. No entanto, é muito provável que a seleção genética intensiva para aumentar a taxa de crescimento e o rendimento do peito, fomentou algumas modificações na anatomia muscular e metabolismo (PETRACCI; CAVANI, 2012; PETRACCI et al., 2013c).

3.5.2 Miopatia *Wooden Breast*

Na avicultura atual, novas anormalidades têm sido identificadas em peitos de frangos sendo estas caracterizadas pela presença de proteínas miofibrilares degenerativas que prejudicam a funcionalidade da célula (KUTTAPPAN et al., 2013a.; SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013). Essa miodegeneração pode ser explicada pelo aumento da taxa de crescimento dos músculos, que excede a taxa de crescimento sustentável fisiologicamente, levando a lesão muscular (WILSON, 1990).

A miopatia *Wooden Breast* é definida como uma extensiva degeneração das fibras musculares (*pectoralis major*) e deposição de colágeno resultando em uma consistência dura dos filés de peito (SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013). A superfície dos músculos exibem petéquias espalhadas (especialmente na extremidade proximal ou no “ombro” do filé), de gravidade variável e frequentemente acompanhada de um líquido gelatinoso (exsudado) (BAILEY, 2015) (Figura 7).

Figura 7. Nº 1 – Músculo *pectoralis major* sem *Wooden Breast* (normal). Nº 2 – Músculo *pectoralis major* afetado por *Wooden Breast* com protuberância, pálido e coberto por um fluído viscoso claro. A protuberância “tipo-crista” na extremidade caudal do músculo pode ser vista pela indicação da seta.



Fonte: SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE (2013).

Sua detecção é sugerida pela palpação e visualização dos filés. As lesões são assépticas e na análise podem apresentar fragmentação das fibras musculares, hialinização, inchaço da miofibrila, fibra muscular necrótica com substituição por tecido conjuntivo, infiltração de macrófagos e presença de manchas irregulares de tecido adiposo. A etiologia desta miopatia ainda não está totalmente esclarecida, porém as lesões têm sido atribuídas à hipóxia tecidual ou anóxia devido à ruptura vascular e / ou à perfusão tecidual estagnada (BAILEY, 2015).

Foi observado também que a carne *White Striping* pode ou não vir acompanhada da miopatia *Wooden Breast*, sendo esta última caracterizada macroscopicamente por uma área endurecida, saliente e pálida na parte caudal do filé (SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013). Além disso, a miopatia *Wooden Breast* e a *White Striping* exibem alterações histológicas semelhantes que consistem em miodegeneração polifásica moderada a grave com a degeneração, bem como quantidades variáveis de acumulação de tecido conjuntivo intersticial ou fibrose (SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013).

Em aves de crescimento rápido, maior fragmentação das fibras musculares e espaço endomisial e perimisial reduzido do tecido conjuntivo estão presentes no músculo *p. major*. O *p. major* é um músculo de rápida contração muscular anaeróbica, composto principalmente de contração rápida das fibras musculares glicolíticas (tipo IIb). O ácido láctico é produzido pela respiração anaeróbica presente no músculo glicolítico e é removido pelo sistema circulatório. Sosnicki e Wilson (1991) relataram uma redução no número de capilares circundantes ou áreas de degeneração necrótica. Com aves selecionadas para o crescimento rápido, o músculo frequentemente reduziu espaçamento do tecido conjuntivo endomisial e perimisial, limitando assim o espaço disponível para os capilares e, portanto, reduzindo a quantidade de ácido láctico removido. No caso de miopatias como *Wooden Breast*, é provável que o ácido láctico produzido a partir da respiração anaeróbica não é eficientemente removido, resultando numa diminuição do pH, conseqüentemente causando danos ao músculo, e degeneração de células adjacentes. Além disso, o *p. major* com *Wooden Breast* tem alta proporção de fibras musculares necróticas ou hipercontraídas (VELLEMAN; CLARK, 2015).

O músculo esquelético é composto de colágeno tipo I e III, ambos sendo de natureza fibrilar. Os colágenos fibrilares como tipos I e III contêm um único domínio triplo-helicoidal consistindo de três cadeias peptídicas separadas. As três cadeias envolvem-se em torno de cada uma formando uma hélice alfa, sendo unidas entre si por intercadeias de ligações dissulfeto. Uma vez que as moléculas de colágeno são secretadas a partir dos espaços intercelulares do tecido conjuntivo, e alinham-se em uma matriz alternada, a ligação cruzada entre as fibrilas toma lugar, levando à formação da fibra (VELLEMAN; CLARK, 2015).

Analisando a expressão gênica, sugere-se que algumas linhagens de frangos com a condição *Wooden Breast*, podem resultar em excessivas ligações cruzadas

de colágeno a partir de elevados níveis de decorina. Decorina é um sulfato de condroitina de proteoglicanos que se associa com dois tipos de colágeno: tipo I e II, e foi identificada em vários tecidos incluindo o músculo esquelético. (EGGEN; MALMSTRMN; LOLSET, 1994). Estudos indicam que as interações entre a proteína do núcleo da decorina e o colágeno interferem na taxa e extensão da fibrilogênese de colágeno (VOGEL; PAULSSON; HEINEGIRD, 1984) e sugerem que a ela controla a maturação de fibrilas em fibrilas maiores e redes de fibras. (SCOTT, 1988).

A falta de decorina desestabiliza a estrutura de colágeno devido à formação anormal de ligação cruzadas, que pode levar à fragilidade da pele causada por uma rede anormal de colágeno. Por outro lado, o significativo aumento da expressão de decorina colabora com o aumento das ligações cruzadas de colágeno, aumentando a dureza do músculo. Estes dados em conjunto sugerem que a fibrose do tecido conjuntivo associada com a miopatia *Wooden Breast*, pode variar em termos de severidade, formação de ligação cruzadas de fibras de colágeno, distribuição de colágeno na matriz extracelular, e efeito sobre a qualidade da carne de peito.

Mudalal et al. (2014) avaliaram o peso e dimensão dos filés entre miopatias *White Striping*, *Wooden Breast* e filés normais. Em geral, o resultado deste estudo revelou que os filés anormais apresentaram maior peso e maior espessura em comparação com os normais. Estes resultados são consistentes com os de Kuttappan et al. (2013 a), que descobriram que a miopatia *White Striping* está associada com filés de maior massa e mais grossos. No entanto, Mudalal et al. (2014) também mostraram que o *Wooden Breast* geralmente tem maior peso e espessura. Isso indica que mesmo aves do mesmo lote, com desenvolvimento acelerado de peito, são mais propensas a esta anormalidade. Isso corrobora a hipótese de que a seleção genética para taxa de crescimento acelerado e maior rendimento de peito desempenha um papel importante na ocorrência destas aberrações emergentes (PETACCI; CAVANI, 2012). Contudo, o aumento do peso de filé não resultou em qualquer alteração no comprimento ou largura do filé.

A anormalidade *Wooden Breast* está associada com um aumento notável da altura filé, em comparação com filés normais e *White Striping*. Isto é claramente observado por causa da presença da protuberância tipo crista na extremidade caudal dos filés, como anteriormente descrito por Sihvo, Immonen e Puolanne (2013). Sendo assim, a avaliação filé pela altura poderia ser proposta como critério

para discriminar filés de peito afetados pela anormalidade *Wooden Breast*. Além disso, demonstrou-se que a maior dureza observada em filés de peito *Wooden Breast* pode ser determinada subjetivamente utilizando compressão (MUDALAL et al., 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados filés de frango (*pectoralis major*) da linhagem Cobb 500, mistos, criados e abatidos com idades entre 47 e 49 dias segundo as diretrizes da Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1998), em um abatedouro-frigorífico localizado na região oeste do Paraná.

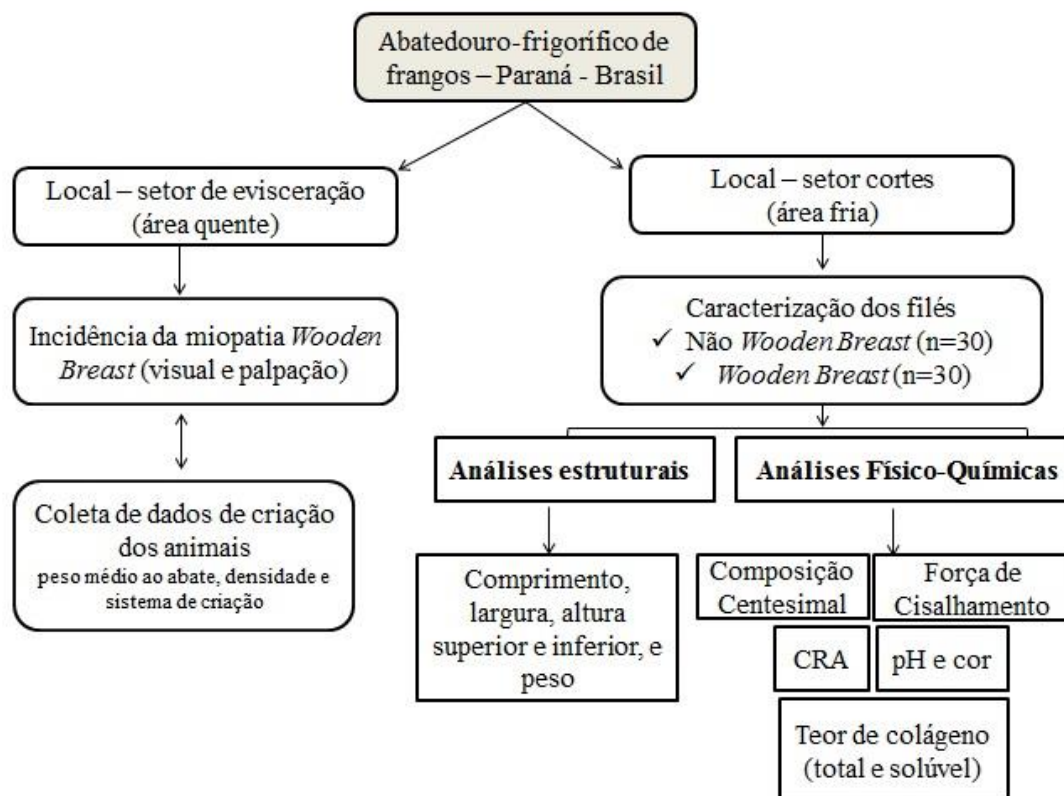
O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) conforme Ofício Circular nº 41/2016 (Anexo A).

Para verificar a incidência de filés *Wooden Breast* na linha comercial de abate foram avaliadas visualmente 30.800 carcaças de frango em diferentes dias e turnos no setor de evisceração. Foram coletados dados de criação dos animais como sistema de criação, densidade do galpão e peso médio ao abate para correlacionar com a miopatia *Wooden Breast*.

Para fazer a caracterização dos filés *Wooden Breast* foram coletados 30 filés com a miopatia (classificados conforme descrito no item 4.2) e 30 filés sem a miopatia (Controle). Os filés foram analisados quanto ao peso, dimensões (comprimento, largura, altura superior e inferior), pH_{24h}, cor, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento, composição centesimal, teor de colágeno total e solúvel.

A Figura 8 apresenta o resumo do planejamento experimental.

Figura 8. Planejamento experimental para investigar *Wooden Breast* em uma linha comercial de abate.



4.2 CLASSIFICAÇÃO DOS FILÉS EM WOODEN BREAST

A classificação dos filés foi realizada conforme proposto por Mudalal et al. (2014) com adaptações. A detecção consistiu na palpação do músculo *pectoralis major* (teste de compressão) e através da visualização do músculo. Foram considerados como *Wooden Breast*, filés com maior dureza, pálidos e com presença de transudato cor citrino e/ou hemorragias (Figura 9).

Figura 9. Filé de frango (*p. major*) acometido pela miopatia *Wooden Breast* (WB) à esquerda e filé sem a miopatia à direita (NWB).



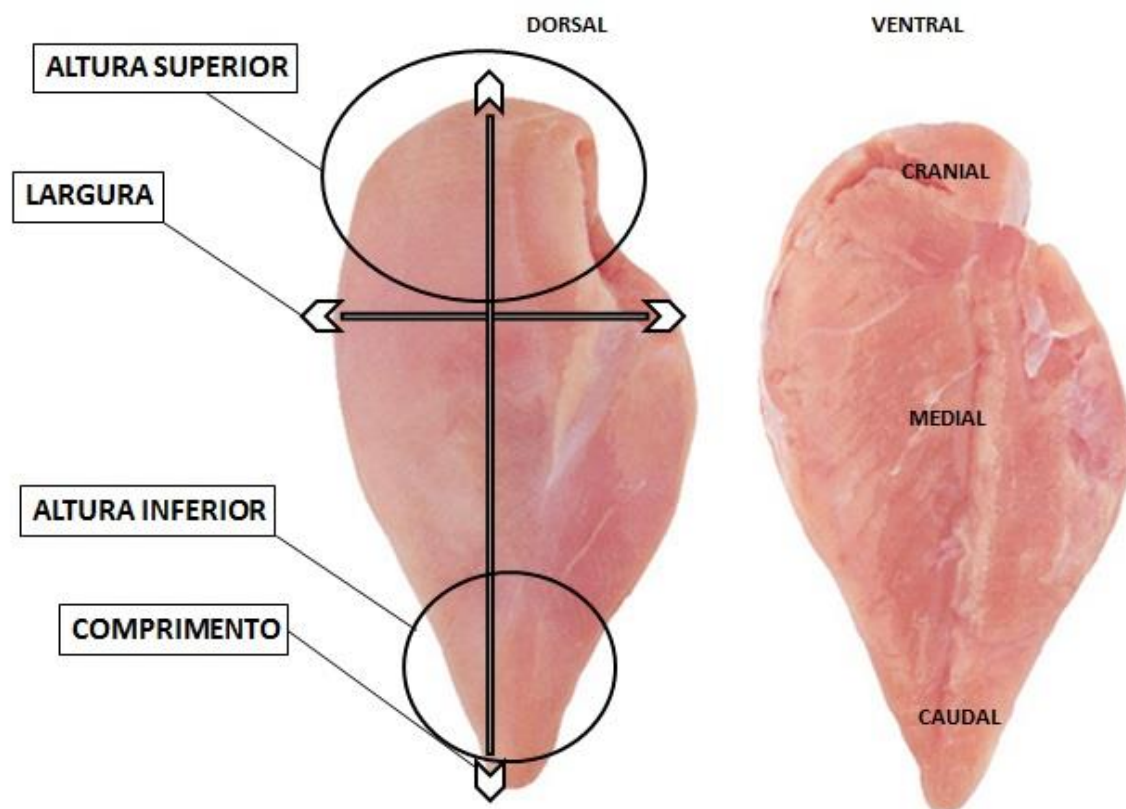
Fonte: o próprio autor.

4.3 METODOLOGIAS

4.3.1 Análises Estruturais dos filés

Os filés de frango foram medidos com a utilização de um paquímetro digital da marca Digimess® (precisão 0,5 mm) nas seguintes dimensões: largura, comprimento, altura superior e inferior conforme apresentado na Figura 10. Os filés também foram pesados individualmente em balança analítica da marca Bel Engineering® (precisão 0,0001 g).

Figura 10. Pontos de referência para medidas das dimensões: largura, comprimento, altura superior e inferior de filés de frango com uso do paquímetro (em milímetros).



Fonte: o próprio autor.

4.3.2 Análises Físico-químicas

4.3.2.1 Medida de pH_{24h}

As medidas de pH_{24h} , em duplicata foram realizadas com auxílio de um potenciômetro, da marca Testo, equipado com eletrodo de inserção, de acordo com as descrições de Soares et al. (2002).

4.3.2.2 Medida de cor

As análises de cor foram realizadas utilizando o colorímetro Minolta® CR-400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°, tomando seis pontos diferentes de

leitura dorsal e ventral, considerando três leituras crânio-médio-caudais para cada lado do filé (SOARES et al., 2002). Os resultados foram expressos nos parâmetros L^* , a^* e b^* do sistema CIELAB.

4.3.2.3 Medida de capacidade de retenção de água (CRA)

A determinação da CRA foi realizada 24 horas *post-mortem*, em duplicata, de acordo com HAMM (1960). Esta análise consiste em colocar aproximadamente 2,0 g entre dois papéis de filtro, e entre duas placas de acrílico, no qual é colocado cuidadosamente um peso de 10 kg por 5 minutos. A CRA foi expressa em porcentagem, calculada pela diferença de peso.

4.3.2.4 Força de cisalhamento

A medida de força de cisalhamento foi realizada nas amostras cruas, seguindo as instruções de Bratzler (1949). As amostras foram cortadas 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 com velocidade $5,0 \text{ mm.s}^{-1}$, acoplada ao texturômetro universal TA-XT2i. Os resultados foram expressos em Newton, correspondente à força máxima necessária para o corte das amostras no sentido transversal às fibras.

4.3.2.5 Composição centesimal

A composição centesimal foi realizada conforme metodologias descritas na A.O.A.C (1995). A umidade foi determinada por secagem a 105°C até peso constante, cinzas por incineração em mufla a 550°C ; os lipídios foram extraídos em extrator tipo Soxhlet com éter de petróleo, após hidrólise ácida. O conteúdo de nitrogênio foi determinado pelo método de Microkjeldahl, utilizando o fator de conversão em proteína de 6,25.

4.3.2.6 Teor de colágeno total (TC) e colágeno solúvel (SC)

O teor total de colágeno (TC) de 1,0 g de amostra foi determinado após 15 horas de hidrólise de 1,0 g de carne, com 15 mL de HCl 6 mol.L⁻¹ a 105°C, conforme relatado por Woessner (1961). O hidrolisado foi filtrado e o pH ajustado entre 6,0 e 7,0 com 33% (p/v) de NaOH, e foi diluído com água destilada para 250 mL. Uma alíquota de 2,0 mL de amostra hidrolisada e 1,0 mL de solução de cloramina T foram homogeneizadas em um tubo de ensaio e deixadas por 20 minutos à temperatura ambiente e 1,0 mL de HClO₄ 3,15 mol.L⁻¹ foi adicionado e deixado durante 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, 1,0 mL de 4-dimetilaminobenzaldeído foi adicionado e as soluções foram agitadas e aquecidas a 60°C por 20 min. As amostras foram resfriadas durante 5 minutos em água de temperatura ambiente e a absorvância medida a 557 nm. A quantidade de hidroxiprolina foi determinada a partir de uma curva padrão. O conteúdo de colágeno foi calculado a partir do conteúdo de hidroxiprolina por meio do coeficiente 8,0 (WOESSNER, 1961).

O colágeno solúvel (SC) foi extraído de acordo com o método modificado de Oliveira, Soares e Antunes (1998). As amostras (2,5 g) foram homogeneizadas durante 1 minuto com 20 mL de água deionizada e aquecidas durante 60 minutos a 80°C. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em Ultra Turrax a 22000 rpm e centrifugadas durante 15 minutos a 4.000 rpm. O sobrenadante foi filtrado e 30 mL de HCl 6 mol.L⁻¹ foi adicionado para a hidrólise, tal como descrito anteriormente.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de regressão logística foi aplicada para verificar a associação entre a ocorrência da miopatia *Wooden Breast* em filés de frango (variável resposta) e o peso das aves ao abate (g), densidade de criação dos animais (kg.m⁻²) e o tipo de sistema de criação (convencional ou *dark house*). A análise de regressão logística foi realizada no programa *Epi Info* versão 3.5.4 e foi calculada a estimativa de risco para a ocorrência de *Wooden Breast* conforme as variáveis independentes.

O teste t de Student a 5% de probabilidade foi aplicado para verificar as diferenças significativas entre os filés *Wooden Breast* e Não *Wooden Breast* com

relações aos resultados de dimensões do filé, pH_{24h}, cor, CRA, força de cisalhamento, composição centesimal, teor de colágeno total e colágeno solúvel. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão e foi utilizado o programa *Statistica* for Windows versão 10.0 (StatSoft).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os Resultados e Discussão foram redigidos na forma de Artigo Científico, o qual está formatado nas normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (Anexo B) para posterior submissão.

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO

Avaliação e caracterização de filés de frango com miopatia *wooden breast* em uma linha comercial de abate do Brasil.

Avaliação e caracterização de filés de frango com miopatia *wooden breast*

Humberto Vinícius Faria da Cunha⁽¹⁾, Adriana Lourença de Soares⁽¹⁾, Talita Kato⁽¹⁾ e Moises Grespan⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Estadual de Londrina (UEL), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Caixa Postal 10.011, CEP 86057-970, Londrina, PR, Brasil. E-mail: betomedvet@hotmail.com, adri.soares@uel.br, talita_kato@hotmail.com, moises@unitacentral.com.br.

Resumo - O objetivo do trabalho foi verificar a incidência de filés com a miopatia *Wooden Breast* em uma linha comercial de abate no Brasil, correlacionar o desenvolvimento da miopatia com dados de criação animal e caracterizar bioquimicamente e estruturalmente os filés de frango anômalos. Foi avaliada a incidência da miopatia em 30800 carcaças e também foram levantados dados de criação dos animais a fim de verificar as suas influências no desenvolvimento da miopatia. Foram coletados 30 filés Não *Wooden Breast* e 30 filés *Wooden Breast* e analisados quanto ao: comprimento, largura, altura superior e inferior, peso, pH_{24h}, cor, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento, composição química, teor de colágeno (total e solúvel). A incidência da miopatia foi de 3,78% e não foi possível associar a miopatia com os dados de peso das aves ao abate, densidade de criação dos animais e o tipo de sistema de criação. Os filés *Wooden Breast* apresentaram-se com maiores valores para peso, altura superior e inferior, cores, força de cisalhamento, umidade, colágeno total. Traçar um diagnóstico mais objetivo é preciso e estudos envolvendo o parâmetro b* deveriam ser considerados devido à presença da coloração acastanhada, típico da miopatia.

Termos para indexação: colágeno; força de cisalhamento; capacidade de retenção de água.

Evaluation and characterization of wooden breast myopathy in poultry breast meat

Abstract – The objective of this work was to verify the incidence of Wooden Breast myopathy in fillets in a commercial slaughter line in Brazil and was to correlate the development of myopathy with animal breeding data and to characterize biochemically and structurally the anomalous chicken fillets. The incidence of myopathy was available in 30,800 carcass and animal breeding data were collected to verify the influence of these factors in the development of myopathy. For the biochemical and structural characterization were collected 30 No Wooden Breast fillets and 30 Wooden Breast fillets, were analyzed: length, width, top and bottom height; weight; pH_{24h}; color water holding capacity; shear force; chemical composition; collagen content (total and soluble). The incidence of myopathy was 3.78% and it was not possible to associate the myopathy with body weight, density of breeding and system of breeding. Wooden Breast fillets presented higher values for weight; bottom and top height, colors, shear force, humidity and total collagen. A more objective diagnosis is required and studies involving the b* parameter should be considered because of the presence of brownish coloration, typical of myopathy.

Index terms: collagen; shear force; water holding capacity.

Introdução

Em 2016, a indústria avícola brasileira, segundo o Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná (SINDIAVIPAR), exportou aproximadamente 4,4 bilhões de toneladas de carne de frango, arrecadando US\$ 6,8 bilhões, sendo o Paraná o Estado com maior representatividade do país (SINDIAVIPAR, 2017). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), 57,7% são exportados como cortes e 32,6% como carcaças inteiras (ABPA, 2017).

Algumas miopatias emergentes vêm aumentando a preocupação da indústria da carne de frango, entre elas a *Wooden Breast*. A miopatia *Wooden Breast* foi descrita pela primeira vez por Sihvo, Immonen e Puolanne (2013) em músculos *pectoralis major* em uma linha comercial na Finlândia. A indústria avícola tem rejeitado estes filés devido à baixa aceitação pelos consumidores e sendo este corte o de maior valor agregado da carcaça, consideráveis perdas econômicas têm sido relatadas pelas indústrias (BAILEY et al., 2015; CLARK; VELLEMAN, 2016).

Os filés com miopatia *Wooden Breast* apresentam maior peso e aumento da espessura da área caudal e dureza (força de cisalhamento) (MUDALAL et al., 2014). Amostras de filés de peito *Wooden Breast* revelaram maior teor de umidade, gordura e colágeno total comparado ao grupo controle, além de apresentar nível de proteína reduzido (SOGLIA et al., 2016). Clark e Velleman (2016) evidenciaram que a miopatia *Wooden Breast* não ocorre de forma uniforme em toda extensão do músculo *p. major* e que a porção final é a mais afetada.

A etiologia desta condição ainda não está totalmente esclarecida, mas acredita-se que, como ocorre em outras patologias miodegenerativas, está relacionada com a rápida taxa de crescimento, bem como aumento do peso final dos frangos (SIHVO; IMMONEN;

PUOLANNE, 2013). Ainda não existem dados sobre a incidência e as características de filés *Wooden Breast* em frigoríficos brasileiros.

O objetivo do trabalho foi verificar a incidência de filés com miopatia *Wooden Breast* em uma linha comercial de abate no Brasil, correlacionar o desenvolvimento da miopatia com dados de criação animal e caracterizar bioquimicamente e estruturalmente os filés de frango com esta miopatia.

Material e Métodos

Todos os procedimentos utilizados no experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) sob registro do Ofício Circular número 41/2016.

O experimento foi conduzido numa linha comercial de abate de frangos localizado no oeste do Estado do Paraná, Brasil. Foram utilizados filés de frango (*pectoralis major*) da linhagem Cobb 500, criados e abatidos com idade entre 47 e 49 dias.

Para avaliar a incidência de filé *Wooden Breast* na linha comercial de abate foram avaliadas visualmente 30800 carcaças de frango em diferentes dias e turnos no setor da evisceração com apoio da equipe do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Foram coletados dados de criação dos animais como sistema de criação, densidade do galpão e peso médio ao abate para correlacionar com a miopatia *Wooden Breast*, através de regressão logística.

Para fazer a caracterização dos filés *Wooden Breast* foram coletados 30 filés com a miopatia e 30 filés sem a miopatia (Controle) que foram analisados quanto ao peso, dimensões (comprimento, largura, altura superior e inferior), pH_{24h}, cor, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento, composição centesimal, teor de colágeno total e solúvel.

A classificação dos filés *Wooden Breast* foi realizada da seguinte maneira:

- *Wooden Breast* – filés de peito com áreas difusas de endurecimento à palpação, com aspecto pálido, presença ou não de transudato cor citrino, acompanhado ou não de pontos hemorrágicos (n=30).
- Não *Wooden Breast* – filés de peito sem áreas endurecidas ao toque e ausentes de qualquer evidência visual da miopatia *Wooden Breast* (n=30).

A medida da massa, em gramas, foi dada através do uso de balança digital da marca Bel Engineering® e das dimensões (comprimento, largura, altura superior e inferior), em milímetros, por paquímetro digital da marca Digimess®.

As medidas de pH_{24h}, em duplicata foram realizadas com auxílio de um potenciômetro, da marca Testo, equipado com eletrodo de inserção, de acordo com as descrições de Soares et al. (2002).

As análises de cor foram realizadas utilizando o colorímetro Minolta® CR-400 com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°, tomando seis pontos diferentes de leitura dorsal e ventral, considerando três leituras crânio-médio-caudais para cada lado do filé (SOARES et al., 2002). Os resultados foram expressos nos parâmetros L*, a* e b* do sistema CIELAB.

A determinação da CRA foi realizada 24 horas *post-mortem*, em duplicata, de acordo com HAMM (1960). A CRA foi expressa em porcentagem, calculada pela diferença de peso.

A medida de força de cisalhamento foi realizada nas amostras cruas, seguindo as instruções de Bratzler (1949). As amostras foram cortadas 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 5,0 mm.s⁻¹, acoplada ao texturômetro universal TA-XT2i. Os resultados foram expressos em Newton, correspondente à força máxima necessária para o corte das amostras no sentido transversal às fibras.

A composição centesimal foi realizada conforme metodologias descritas na A.O.A.C (1995). A umidade foi determinada por secagem a 105°C até peso constante, cinzas por incineração em mufla a 550°C; os lipídios foram extraídos em extrator tipo Soxhlet com éter de petróleo, após hidrólise ácida. O conteúdo de nitrogênio foi determinado pelo método de Microkjeldahl, utilizando o fator de conversão em proteína de 6,25.

O teor total de colágeno de 1,0 g de amostra foi determinado após 15 horas de hidrólise de 1,0 g de carne, com 15 mL de HCl 6 mol.L⁻¹ a 105°C, conforme relatado por Woessner (1961). O hidrolisado foi filtrado e o pH ajustado entre 6,0 e 7,0 com 33% (p/v) de NaOH, e foi diluído com água destilada para 250 mL. Uma alíquota de 2,0 mL de amostra hidrolisada e 1,0 mL de solução de cloramina T foram misturadas em um tubo de ensaio e deixadas por 20 minutos à temperatura ambiente e 1,0 mL de HClO₄ 3,15 mol.L⁻¹ foi adicionado e deixado durante 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, 1,0 mL de 4-dimetil-aminobenzaldeído foi adicionado e as soluções foram agitadas e aquecidas a 60°C por 20 min. As amostras foram resfriadas durante 5 minutos em água da torneira e a absorvância medida a 557 nm. A quantidade de hidroxiprolina foi determinada a partir de uma curva padrão. O conteúdo de colágeno foi calculado a partir do conteúdo de hidroxiprolina por meio do coeficiente 8,0 (WOESSNER, 1961).

O colágeno solúvel foi extraído de acordo com o método modificado de Oliveira, Soares e Antunes (1998). As amostras (2,5 g) foram homogeneizadas durante 1 minuto com 20 mL de água deionizada e aquecidas durante 60 minutos a 80°C. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em Ultra Turrax a 22000 rpm, e centrifugadas durante 15 minutos a 4.000 rpm. O sobrenadante foi filtrado e 30 mL de HCl 6 mol.L⁻¹ foi adicionado para a hidrólise, tal como descrito anteriormente.

A análise de regressão logística foi aplicada para verificar a associação entre a ocorrência da miopatia *Wooden Breast* em filés de frango (variável resposta) e o peso das

aves ao abate (g), densidade de criação dos animais (kg.m^{-2}) e o tipo de sistema de criação convencional (convencional ou *dark house*). A análise de regressão logística foi realizada no programa *Epi Info* versão 3.5.4 e foi calculada a estimativa de risco para a ocorrência de *Wooden Breast* conforme as variáveis independentes.

O teste t de *Student* a 5% de probabilidade foi aplicado para verificar as diferenças significativas entre os filés *Wooden Breast* e Não *Wooden Breast* com relações aos resultados de dimensões do filé, $\text{pH}_{24\text{h}}$, cor, CRA, força de cisalhamento, composição centesimal, teor de colágeno total e colágeno solúvel. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão e foi utilizado o programa *Statistica* for Windows versão 10.0 (StatSoft).

Resultado e Discussão

Das 30.800 carcaças de frango avaliadas entre os dias 27/06/2016 a 01/07/2016 em turnos diferentes, 1.164 apresentaram a miopatia *Wooden Breast*, ou seja, uma incidência de 3,78%. Embora a incidência seja baixa, há perdas econômicas consideráveis visto que as carcaças com características *Wooden Breast* eram condenadas total ou parcialmente pelo setor de Inspeção *Post-Mortem* do Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Não foi encontrada associação entre o desenvolvimento da miopatia *Wooden Breast* e os fatores de peso final da ave, densidade de criação e sistema de criação pela análise de regressão logística (Tabela 1), provavelmente devido a baixa incidência de *Wooden Breast* na linha comercial de abate. Pelo cálculo de estimativa de risco, a chance de ocorrer a miopatia é a mesma para todos os pesos de carcaça. Embora, Bailey et al. (2015) ao estudarem uma linhagem A (peso de carcaça: 2,33 kg), de alto rendimento, e uma linhagem B (peso de carcaça: 1,91 kg), de moderado rendimento, demonstraram que a incidência da miopatia foi maior na linhagem A (3,19%) comparada com a linhagem B (0,16%). Os fatores de densidade

de criação e sistema de criação não foram correlacionados com *Wooden Breast*, no entanto, outras miopatias como o desenvolvimento de carnes PSE (*Pale, Soft, Exsudative*) são influenciadas pelo sistema de criação, sendo aves criadas em sistema *Dark House* mais susceptíveis ao estresse que aves criadas em sistemas convencionais (Carvalho et al. 2015).

Os filés de peito com *Wooden Breast* apresentaram maior valor de massa e maior espessura na altura superior e inferior comparado com filés Não *Wooden Breast* (Tabela 2), estando de acordo com os resultados apresentados por Mudalal et al. (2014) que encontraram valores de peso e altura superior e inferior maiores para filés *Wooden Breast* do que para filés normais. Aves portadoras da miopatia *Wooden Breast* possuem uma genética de crescimento acelerado e alto rendimento, justificando as maiores dimensões e maiores pesos destes filés (VELLEMAN; CLARK, 2015; CLARK; VELLEMAN, 2016; BAILEY et al., 2015), embora pela regressão logística não tenha sido possível estabelecer uma associação significativa com peso ao abate e o desenvolvimento da miopatia.

O maior teor de umidade em amostras *Wooden Breast* (Tabela 3) foi observado devido a possível ocorrência de edema moderado a grave como consequência de um processo inflamatório (SIHVO et al., 2013) e o aumento da deposição de glicosaminoglicanos da matriz extracelular encontrados em amostras *Wooden Breast* por Velleman e Clark (2015). A última, como consequência da carga negativa muito elevada, resultante de estar covalentemente ligada a proteínas de núcleo de proteoglicano, interage ionicamente com água, levando a alterações relevantes na capacidade de retenção de água da carne (VELLEMAN; CLARK, 2015). Outro fator importante que contribuiu para maior teor de umidade foi a baixa CRA dos filés *Wooden Breast*.

Não foram observadas diferenças nos valores de proteína, lipídios e razão lipídio/proteína entre os filés *Wooden breast* e não *Wooden Breast* (Tabela 3), embora esperado, Soglia et al. (2016) verificaram menores teores de proteína e maiores teores de

gordura para filés *Wooden Breast*. A miodegeneração profunda e reorganização da estrutura do músculo esquelético resultam na substituição das fibras musculares por gordura e tecido conjuntivo. No entanto as características morfológicas do filé *Wooden Breast*, tais como necrose de fibras, infiltração de macrófagos e deposição de tecido conjuntivo, não são uniformes em toda musculatura do *pectoralis major* (Clark e Velleman, 2016), portanto a escolha da localização da obtenção da amostragem no peito interfere nos resultados, o que provavelmente justifica os resultados obtidos no presente trabalho.

O maior teor de colágeno total na musculatura peitoral afetada pela miopatia *Wooden Breast* (Tabela 4) é devido o espessamento difuso do tecido conjuntivo intersticial causado pela fibrose (MUDALAL et al., 2014; VELLEMAN; CLARK, 2015; SOGLIA et al., 2016). A maior relação colágeno/proteína para filés *Wooden Breast* também foi observada por Petracci et al. (2014) e indica perda de qualidade nutricional e funcional das proteínas destes filés. A baixa qualidade nutricional é devido à baixa digestibilidade do colágeno e à deficiência de alguns aminoácidos essenciais (como triptofano e lisina) no tecido conjuntivo com relação às proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares (BOBACK et al., 2007). A baixa funcionalidade está relacionada com a baixa CRA do colágeno em relação às outras proteínas, levando a perdas econômicas.

Os filés *Wooden Breast* apresentaram-se mais pálidos (maior parâmetro L*), mais vermelhos (maior parâmetro a*) e mais amarelos (maior parâmetro b*) que os filés Não *Wooden Breast* (Tabela 5), provavelmente devido à deposição de colágeno, presença de pontos hemorrágicos e transudato. Mudalal et al. (2014) encontraram diferenças significativas apenas no parâmetro b* para filés *Wooden Breast*. O parâmetro de cor b* poderia ser proposto como um critério para discriminar os filés afetados pela anormalidade *Wooden Breast* substituindo a avaliação subjetiva, futuros trabalhos nesse sentido poderiam ser considerados para traçar uma estratégia de diagnóstico menos subjetivo. Os valores de pH_{24h} não diferiram

entre os filés com miopatia e sem miopatia estando de acordo com os resultados encontrados por Mudalal et al. (2014) que também não observaram diferenças nos valores de pH_{24h}.

Filés *Wooden Breast* apresentaram menor Capacidade de Retenção de Água (CRA) que filés Não *Wooden Breast*. A CRA é uma importante propriedade funcional da carne que está diretamente relacionada com as proteínas e leva a perdas econômicas importantes para a indústria cárnea (OLIVO; OLIVO, 2005) devido à perda de exsudatos em carnes *in natura* e ao baixo rendimento em produtos cárneos. A baixa CRA em filés *Wooden breast* está relacionada com maior teor de colágeno total e maior razão colágeno/proteína (Tabela 5), uma vez que a maior razão indica maior proporção de colágeno em detrimento a outras proteínas e o colágeno na sua forma nativa apresenta menor CRA que as proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas (OLIVO et al, 1996). Além disso, a presença de necrose, degeneração multifocal e fibrose em filés *Wooden Breast* (SIHVO; IMMONEN; PUOLANNE, 2013; VELLEMAN; CLARK, 2015) pode ter contribuído para menor retenção de água devido a alterações nas estruturas das proteínas.

A maior força de Cisalhamento (FC) dos filés *Wooden Breast* é consequência da menor CRA e do maior teor de colágeno total e menor teor de colágeno solúvel. A perda de solubilidade do colágeno está diretamente relacionada com a presença de ligações cruzadas maturadas (piridinolina) nesses animais (VELLEMAN; CLARK, 2015; CLARK; VELLEMAN, 2016). A necrose, degeneração e fibrose podem ter contribuído para formação de mais ligações cruzadas, tornando o colágeno mais insolúvel e aumentando a dureza da carne. A decorina é uma proteína com múltiplos papéis fisiológicos, incluindo a formação das ligações cruzadas de colágeno (VELLEMAN; CLARK, 2015). Clark e Velleman (2016) descobriram que numa linhagem de frango de crescimento acelerado, acometida por *Wooden Breast*, havia uma elevada expressão de decorina e uma firme organização histológica de fibras colágenas no perimísio do músculo *pectoralis major*, sugerindo um alto grau de

ligações cruzadas de colágeno. O alto grau de ligações cruzadas em filés de peito *Wooden Breast* provavelmente resultaria na rigidez à palpação. Mudalal et al. (2014) também observaram, maiores valores para o teste de compressão em filés *Wooden Breast* (4,02 kg), comparado aos normais (2,02 kg).

Conclusões

1. Não há correlação com a incidência de *Wooden Breast* diferentes pesos das aves ao abate, densidade de criação dos animais e sistemas de criação (convencional e *Dark House*), todavia deve-se avaliar a influência de outros fatores ambientais.
2. A medida do parâmetro b^* em filés acometidos pela miopatia *Wooden Breast*, comparados com filés normais, podem servir de futuro suporte para um diagnóstico mais objetivo desta patologia, devido à presença da coloração acastanhada na musculatura do *p. major*.
3. Filés de peito *Wooden Breast* mostraram-se com menor quantidade de colágeno solúvel, inferindo que estes filés possuem maior quantidade de ligação cruzada (piridinolina) e, portanto maior dureza.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Referências

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **ABPA na Mídia**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

AOAC, Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis. Arlington: AOAC, 1995. v.2, cap. 39, Meat and meat products, p.13-15.

BAILEY, A.J. The role of collagen in the development of muscle and its relationship to eating quality. **Journal Animal Science**, Oxford, v. 60, p.1580-1587, 1985.

BAILEY, R.A.; WATSON, K.A.; BILGILI, S.F.; AVENDANO, S. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. **Poultry Science**, v. 00, p. 0-10, 2015.

BOBACK, M. S.; COX, L. C.; OTT, D. B.; CARMODY, R.; WRANGHAM, W. R.; SECOR, M. S. Cooking and grinding reduces the cost of meat digestion. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 148, p. 651-656, 2007.

CARVALHO, R. H.; SOARES, A. L.; GRESPAN, M.; SPURIO, R. S.; CORÓ, F. A. G.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M. The effects of the dark house system on growth, performance and meat quality of broiler chicken. **Animal Science Journal**, v. 86, p. 189-193, 2015.

CLARK, D.L.; VELLEMAN, S.G. Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers. **Poultry Science**, v. 95, p. 2930-2945, 2016.

HAMM, R. **Biochemistry of meat hydration**. Advances in Food Research Cleveland, v.10, n.2, p.435-443, 1960.

MUDALAL, S.; LORENZI, F.; SOGLIA, C.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, v. 9, p. 728-734, 2014.

OLIVEIRA, L. B., SOARES, G. J. D.; ANTUNES, P. L. Influência da maturação de carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas de peso por cozimento. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, 166–171, 1998.

OLIVO, R.; BETANHO, C.; DAGLI, M.L.Z.; SHIMOKOMAKI, M. Como as fibras de colágeno estabilizam uma emulsão cárnea. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.20, n.230. p.20-24, abr. 1996.

OLIVO, R.; OLIVO, N. **O Mundo das Carnes: Ciência, Tecnologia & Mercado**. Criciúma: UNESC, 2005.

PETRACCI, M.; MUDALAL, S.; BABINI, E.; CAVANI, C. Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 179-183, 2014.

SIHVO, H.K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. **Veterinary Pathology**, v.51, p. 619–623, 2013.

SINDIAVIPAR. Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná. **Estatísticas**. Disponível em: <<https://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=8&acao=frango>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

SOARES, A.L.; LARA, J.A.F.; IDA, E.I.; GUARNIERI, P.D.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Variation in the color of Brazilian broiler breast fillet. Proceedings of International **Congress of Meat Science and Technology**, Roma, v.48, p.540-541, 2002.

SOGLIA, F.; LAGHI, L.; CANONICO, L.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. **Food Research International**, v.89, p. 1071-1073, 2016.

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

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

Tabelas

Tabela 1. Análise de regressão logística e estimativa de risco para a ocorrência de *Wooden Breast* em filés de frangos conforme os fatores de peso da carcaça (g), densidade de criação (aves.m⁻²) e sistema de criação dos frangos.

Fatores de estudo	Wooden Breast (n)	Wooden Breast (%)	Valor de p	Estimativa de Risco	Intervalo de confiança (95%)
Peso das aves (g)					
2.500 – 2.999 (n=600)	25	4,2	0,4513	0,7686	0,3875 1,5244
3.000 – 3.500 (n= 800)	28	3,5			
Densidade de criação (aves.m⁻²)					
12 - 13 (n= 400)	18	4,5	0,9081	1,022	0,7044 1,4832
13 – 14 (n= 400)	9	2,3			
14 - 15 (n= 600)	26	4,3			
Sistema de criação					
Convencional (n=400)	15	3,8	0,6922	0,8432	0,3632 1,9590
Dark House (n= 1.000)	38	3,8			

Tabela 2. Efeito da miopatia *Wooden Breast* sobre o peso e dimensões de filés de frango.

Parâmetros	Não <i>Wooden Breast</i>	<i>Wooden Breast</i>
Peso (g)	260,73 ^b ($\pm 58,71$)	357,37 ^a ($\pm 46,63$)
Comprimento (mm)	175,42 ^a ($\pm 13,25$)	173,79 ^a ($\pm 14,23$)
Largura (mm)	70,68 ^a ($\pm 5,47$)	70,83 ^a ($\pm 5,81$)
Altura Superior (mm)	41,03 ^b ($\pm 5,23$)	45,11 ^a ($\pm 5,47$)
Altura Inferior (mm)	23,49 ^b ($\pm 6,46$)	27,17 ^a ($\pm 7,63$)

Médias seguidas pelo Desvio Padrão.

^{a-b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os valores pelo teste t de *Student* ($P \leq 0,05$).

Tabela 3. Efeito da miopatia *Wooden Breast* sobre a composição química aproximada e razão gordura:proteína de filés de frango.

Parâmetros	Não <i>Wooden Breast</i>	<i>Wooden Breast</i>
Umidade (%)	74,73 ^b ($\pm 0,93$)	75,90 ^a ($\pm 1,20$)
Cinzas (%)	1,11 ^a ($\pm 0,06$)	1,10 ^a ($\pm 0,08$)
Lipídios (%)	1,74 ^a ($\pm 0,76$)	1,56 ^a ($\pm 0,60$)
Proteína Total (%)	22,94 ^a ($\pm 1,64$)	22,42 ^a ($\pm 1,25$)
Razão lipídio/proteína	0,078 ^a ($\pm 0,040$)	0,070 ^a ($\pm 0,028$)

Médias seguidas pelo Desvio Padrão.

^{a-b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os valores pelo teste t de *Student* ($P \leq 0,05$).

Tabela 4. Efeito da miopatia *Wooden Breast* sobre o teor de colágeno total, colágeno solúvel e razão colágeno: proteína de filés de frango.

Parâmetros	Não <i>Wooden Breast</i>	<i>Wooden Breast</i>
Colágeno Total (%)	0,2172 ^b ($\pm 0,0360$)	0,3056 ^a ($\pm 0,0795$)
Colágeno Solúvel (%)	0,1277 ^a ($\pm 0,0283$)	0,1058 ^b ($\pm 0,0584$)
Razão colágeno/proteína	0,0096 ^b ($\pm 0,0017$)	0,0140 ^a ($\pm 0,0030$)

Médias seguidas pelo Desvio Padrão.

^{a-b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os valores pelo teste t de *Student* ($P \leq 0,05$).

Tabela 5. Efeito da miopatia *Wooden Breast* sobre pH_{24h}, cor (L*, a*, b*), capacidade de retenção de água (CRA) e força de cisalhamento (FC) dos filés de frango.

Parâmetros	Não <i>Wooden Breast</i>	<i>Wooden Breast</i>
pH _{24h}	5,92 ^a ($\pm 0,18$)	5,97 ^a ($\pm 0,12$)
L*	56,96 ^b ($\pm 1,77$)	59,45 ^a ($\pm 1,93$)
a*	1,92 ^b ($\pm 0,89$)	2,81 ^a ($\pm 0,87$)
b*	5,39 ^b ($\pm 1,30$)	7,44 ^a ($\pm 1,74$)
CRA (%)	68,08 ^b ($\pm 3,09$)	65,72 ^a ($\pm 3,10$)
FC (N)	21,35 ^b ($\pm 2,51$)	25,88 ^a ($\pm 10,41$)

Médias seguidas pelo Desvio Padrão.

^{a-b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os valores pelo teste t de *Student* ($P \leq 0,05$).

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **ABPA na Mídia**. Disponível em: < <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>. Acesso em: 22 fev. 2017.
- ANADÓN, H. L. S. Biological, nutritional and processing factors affecting breast meat quality of broilers. Tese (Doutorado em Ciência Avícola e Animal) – Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2002.
- AOAC, Association of Official Agricultural Chemists. *Official methods of analysis*. Arlington: AOAC, 1995. v.2, cap. 39, Meat and meat products, p.13-15.
- BAILEY, A. J.; SIMS, T. J. Meat tenderness: distribution of molecular species of collagen in bovine muscle. **Journal Science and Food Agriculture**, London, v.28, p.565-570, 1977.
- BAILEY, A.J. The role of collagen in the development of muscle and relationship to eating quality. **Journal Animal Science**, Savoy, v. 60, n. 6, p. 1580-1587, 1985.
- BAILEY, A.J. The chemistry of collagen cross-links and their role in meat texture. **Reciprocal Meat Conference Proceedings**, Bristol, v.42, p.127-135, 1989.
- BAILEY, R.A.; WATSON, K.A.; BILGILI, S.F.; AVENDANO, S. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. **Poultry Science**, v. 00, p. 0-10, 2015.
- BARBUT, S. Ocurrence of pale, soft, exudative meat in mature turkey hens. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 38, p. 74-77, 1997a.
- BARBUT, S. Problem of pale, soft, exudative meat in broilers chickens. **British Poultry Science**, v. 38, p. 355-358, 1997b.
- BARBUT, S.; SOSNICKI, A. A.; LONERGAN, S. M.; KNAPP, T.; CIOBANU, D. C.; GATCLIFFE, L. J.; HUFF-LONERGAN, E.; WILSON, E. W. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. **Meat Science**, v. 79, p. 46-63, 2008.
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. 1 ed. São Paulo: Manole, p. 566, 2000.
- BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. v. 1 e 2. Livros Técnico e Científicos. Editora S.A., 1976, 574 p.
- BELEW, J.B. *et al.* Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. **Meat Science**, Barking, v. 64, p. 507-512, 2003.

BENDAL, J. R.; WISMER-PERDERSEN, J. Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, v.24, p.14457, 1962.

BENDALL, J. R. **Postmortem changes in muscle**. In: BOURNE, G.H. (Ed.). The structure and function of muscle. v. 2. New York: Academic Press, 1973. p. 244-309.

BENDAL, J. R.; SWATLAND, H. J. A review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. **Meat Science**, Oxford, v. 24, p. 85 – 126, 1988.

BONFIM, L. **Carne maturada: entendendo o processo de maturação de carnes**. Betim/MG: PUC, 2004.

BILGILI, S.F. **Broiler Chicken Myopathies: II. Woody Breast?**. 2013. Disponível em: <http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2014/09/WOGSAPR13.pdf>. Acesso em: 13 de Outubro de 2015.

BILGILI, S.F. **Broiler chicken myopathies III: Necrotic pectoral myopathy**. 2014. Disponível em: <http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2014/11/WOGSJUN14.pdf>. Acesso em: 13 de Outubro de 2015.

BRASIL Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária da carne de aves. Divisão de inspeção de produtos de origem animal (DIPOA), Secretaria de defesa agropecuária (SDA), Ministério da Agricultura, Pecuária Abastecimento. **Diário Oficial da União de 11 de novembro de 1998**, Brasília, 1998.

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**, Chicago, v.64, n.1, p.171-174, 1999.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3. ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2000.

CANDEK-POTOKAR, M. Effects of age and/or weight at slaughter on *longissimus dorsi* muscle: biochemical traits and sensory quality in pigs. **Meat Science**, v.48, n. 3/4, p. 287-300, 1998.

CANTY, E. G.; KADLER, K. E. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. **Journal Cell Science**. v.118, n.1, p. 1341-1353, 2005.

CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M. Mitochondrial calcium transport and calcium-activated phospholipase in porcine malignant hyperthermia. **Biochemical and Biophysical Acta**, Amsterdam, v. 634, p. 70 – 84, 1981.

CHRISTALL, B.B.; CULIOLI, J.; HONIKEL, K.O.; MÖLLER, A.J.; PURSLOW, P.; SCHWÄGELE, F.; SHORTHOSE, R.; UYTTERHAEGEN, L. Recommendation of reference methods for assesment of meat tenderness. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, **Proceedings** ... The Hague, v. 40, S-IVB, 6, p. 1-7, 1994.

CLARK, K.A.; MCELHINNY, A.S.; BECKERLE, M.C.; GREGORIO, C.C. Striated muscle cytoarchitecture. An intricate web of form and function. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**. n. 18, 637-706, 2002.

COMISSION INTERNACIONAL DE L'ECLAIRAGE (1976). **Colorimetry**. 2 ed. Vienna, Switzerland: CIE.

CORÓ, F.A.G.; YOUSSEF, E.Y.; SHIMOKOMAKI, M. Age related in poultry breast meat collagen pyridinoline and texture. **Journal of Food Biochemistry**, v.26, n. 6, p. 533-541, 2002.

CRAIG, R. Disponível em <http://www.ks.uiuc.edu/research/z1z2/> Acesso em 23/02/2017.

DAMODARAN S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R.; **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2010.

DICKINSON, E. M.; STEVENS, J. O.; HELFER, D. H. **A degenerative myopathy in turkeys**. Page 6 in Proc. 17th Western Poultry Disease Conference. California, Davis, 1968.

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

DUBOWITZ, V. BROOKE, M. H. Histological and biochemical stains and reactions. In: DUBOWITZ, V. **Muscle biopsy: a modern approach**. London: W. B. Saunders, 1973. p. 20-73.

DUTSON, T. R. Relationship of pH and temperature to disruption of specific muscle proteins and activity of lysossomal protease. **Journal Food Biochemistry**, v. 7, p. 223, 1983.

EGGEN, K. H.; MALMSTRMN, A.; LOLSET, S. O. Decorin and a large dermatan sulfate proteoglycan in bovine striated muscle. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1204, p. 287-297, 1994.

FELÍCIO, P. E. O ABC do PSE/ DFD. **Alimentos & Tecnologia**. São Paulo, v. 2, n. 10, p. 54 – 57, 1986.

FELÍCIO, P.E. **Fatores que Influenciam na Qualidade da Carne Bovina**. In: A. M. Peixoto; J. C. Moura; V. P. de Faria. (Org.). **Produção de Novilho de Corte**. 1.ed. Piracicaba: FEALQ, v. Único, p.79-97, 1997.

FELÍCIO, P.E. de. In: XXXVI Reunião Anual da SBZ, Porto Alegre, 1999, Rio Grande do Sul. Anais. Rio Grande do Sul: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.

FLETCHER, D. L. Broiler breast meat color variation, pH and texture. **Poultry Science**, Savoy, v. 78, p. 1323 – 1327, 1999.

FLINT, F. O.; PICKERING, K. Demonstration of collagen in meat products by an improved micro-sirius ref polarization method, **The Analyst**, v. 109, p. 1505-1506, 1984.

FLORES, J.; BERMELL, S. Colágeno: características y propiedades de intrínsecas para a indústria carniça. **Revista Agroquímica Tecnología y Alimentos**, Valencia, v. 28, n. 4, p. 463-472, 1988.

FRANDSON, R.D; WILKE, W.L.; FAILS, A.D. **Anatomy and Physiology of Farm Animals**. 7 ed. Iowa: Wiley-BlackWell, 2009. 489 p.

GUARNIERI, P. D.; OLIVO, R.; SOARES, A. L.; LARA, J. A. F.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Bem-estar animal e qualidade da carne. Uma exigência dos consumidores, **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, Ano XXVI, n. 301, p. 36 – 44, 2002.

GUARNIERI, P. D. et al. Preslaughter handling with water shower spray inhibits PSE (Pale, Soft, Exudative) broiler breast meat in commercial plant. Biochemical and ultrastructural observations. **Journal of Biochemistry**, v. 28, p. 269-277, 2004.

GUIMARÃES, J.L., ADELL, E.A.A. **Estrutura e bioquímica do músculo**. Apostila do Laboratório de Carnes. DTA-FEA-UNICAMP, Junho de 1995.

GREASER, M.L., PEARSON, A.M. **Alimentos de carnes y sus analogos**. Textura de los alimentos: Medidas y Percección. Zaragoza: Acríbia, cap. 8, p. 223-250, 2001.

HAMILTON, D.N. et al. Effect of level, source, and time of feeding prior to slaughter of supplementary dietary magnesium on pork quality. **Meat Science**, v.65, p.853–857, 2003.

HAMM, R. **Biochemistry of meat hydration**. Advances in Food Research Cleveland, v.10, n.2, p.435-443, 1960.

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

KANNAN, G.; HEATH, J. L.; WABECK, C. J.; SOUZA, M. C. P.; HOWE, J. C.; MENCH, J. A. Effects of crating and transport on stress and meat quality characteristics in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 4, p. 523 – 529, 1997.

HARDIN, BERTONI & KLEINSMITH. Disponível em <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-17/CB17.html> . Acesso em 13/10/15.

JUNQUEIRA L. C. U.; BIGNOLOS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue section. **Histochemical Journal**, v. 11, p.447-455, 1979.

KIJOWSKI, J.; NIEWIAROWICZ, A.; KUJAWSKA-BIERNAT, B. Biochemical and technological characteristics of hot chicken meat. **Journal of Food Technology**, Dorking, v. 17, p. 553 – 560, 1982.

KLUG, W.S.; CUMMING, M. R. **Concepts of genetics**. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 1997. Apud Saeidi, N. On the control of collagen fibril organization and morphology. [dissertação de mestrado]. Boston (MA): Northeastern University; 2009.

KOOMAHRAIE, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. **In Proceedings of 41st annual reciprocal meat conference**, Wyoming, USA, p.89-100, 1988.

KOOHMARAIE, M. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effects on myofibrils with μ -calpains. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3697–3708, 1992.

KOOMAHRAIE, M; GEESINK, G.H. Contribution of *postmortem* muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particupar focus on the calpain system. **Meat Science**, v.74, p. 34 – 43, 2006.

KUTTAPPAN, V. A.; BREWER, V. B.; CLARK, F. D.; MCKEE, S. R.; MEULLENET, J. F.; EMMERT, J. L.; OWENS, C. M. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. **Poultry Science** **88 (E-Suppl. 1)**, 136–137, 2009.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. **Poultry Science**, v. 91, p. 1240-1247, 2012c.

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

KUTTAPPAN, V. A. et al. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, v. 92, p. 811-819, 2013b.

LAWRIE, R.A. **Ciência da carne**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.

LARA, J.A.F.; SHIMOKOMAKI, M. Estresse térmico e carne PSE em frangos. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, 2002, Campinas. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.3, p.19-19, 2002.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo (SP): Sarvier; 1995.

LILLIE, R. D. **Histopatologic Technic and Practical Histochemistry**. New Jersey: Blakiston Company, 1954. 501 p.

LINDEN, G.; LORIENT, D. **New ingredients in food processing: biochemistry and agriculture**. Boca Raton (FL): CRC Press; 2000.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. 1.ed.-São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000.134p.

LUCHIARI FILHO, A. Produção de carne bovina no Brasil. Qualidade, quantidade ou ambas? In: **II SIMBOI - Simposio sobre desafios e novas tecnologias na bovinocultura de corte**, 2, 2006, Brasília, DF. Brasília, DF: SIMBOI, 2006.

MCKEE, S. R.; SAMS, A. R. Rigor mortis development at elevated temperatures induces pale exudative turkey meat characteristics. **Poultry Science**, v.77, n.1, p.169-174, 1998.

MEHAFFEY, J. M. S. P. *et al.* Meat quality evaluation of minimally aged broiler breast fillets from five commercial genetic strains. **Poultry Science**, v. 85, p. 902-908, 2006.

MILLER, M.F.; CARR, M.F.; RAMSEY, C.B.;CROCKETT, K.L.; HOOVER, L.C. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 3062-3068, 2001.

MORETTI, B. R. **Efeito da suplementação do leite com proteína de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição de cultura láctica em iogurtes**. [dissertação de mestrado]. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 2009.

MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P.E.; RAATS, J.G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v.112, p.279-289, 2009.

MUDALAL, S.; LORENZI, F.; SOGLIA, C.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, v. 9, p. 728-734, 2014.

NEKLYUDOV, A. D. Nutritive fibers of animal origin: collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. **Applied Biochemistry Microbiology**. 2003; 39(3):229-38.

OBA, A.; SOARES, A. L.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. A evolução da seleção genética do frango e as anomalias que afetam a produção das carnes. **Aveworld**, Paulínia, ano 4, n. 22, p. 48 – 51, 2006.

OBA, A.; ALMEIDA, M.; PINHEIRO, J.W.; IDA, E.; MARCHI, D.F.; SOARES, A.L.; SHIMOKOMAKI, M. The Effect of Management of Transport and Lairage Conditions on Broiler Chicken Breast Meat Quality and DOA (Death on Arrival). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p. 205-211, 2009.

ODA, S. H. I. et al. Detecção de cor em filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.28, n.321, p. 30-34, 2003.

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

OFFER, G. Modeling of the formation of pale, soft and exudative meat – effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. **Meat Science**, v. 30, p. 157-184, 1991.

OLIVEIRA, L. B., SOARES, G. J. D.; ANTUNES, P. L. Influência da maturação de carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas de peso por cozimento. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, 166–171, 1998.

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.

OLIVO, R.; SOARES, A. L., IDA, E. I., SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat function properties. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v. 25, n. 4, p. 271 – 283, 2001.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: no caminho da pesquisa**. 2 ed. Cocal do Sul: IMPRINT, 2002. 155 p.

OLIVO, R.; OLIVO N. **O mundo das carnes**. Criciúma: Varela, 2006.

ORDOÑEZ PEREDA, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F. et al. **Tecnologia de alimentos – Alimentos de origem animal**, Porto Alegre: Artmed, 2v., v. 2 , 2005, 279p.

OWENS, C. M.; MCKEE, S. R.; MATTHEUS, N. S.; SAMS, A. R. The development of pale, exudative meat in two genetic lines of turkeys subjected to heat stress and its prediction by halothane screening. **Poultry Science**, v.79, p.430-435, 2000.

OWENS, C. M.; VIEIRA, S. I. White striping in broiler breast meat. **Broiler Carcass Quality**, p. 83-88, 2012.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R. & PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. v.1. Goiânia, Editora da UFG, 1993. 586 p.

PAYNE, K. J.; VEIS, A. Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: deconvolution of the amide I band for conformational studies. **Biopolymers**, 27: 1749-1760, 1988.

PEARSON, A.M., DUTSON, T. R., BAILEY, A.J. **Advances in Meat Research**. v.4 (Collagen and Food) p.2, 1985.

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

PETRACCI, M.; MUDALAL, S.; BONFIGLIO, A.; CAVANI, C. Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 92, p. 1670-1675, 2013b.

PETRACCI, M.; SIRRI, F.; MAZZONI, M.; MELUZZI, A. Comparison of breast muscle traits and meat quality characteristics in 2 commercial chicken hybrids. **Poultry Science**, v. 92, p. 2438-2447, 2013c.

PETRACCI, M.; MUDALAL, S.; BABINI, E.; CAVANI, C. Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 179-183, 2014.

POWELL, T.H. *et al.* Enzymatic assay to determine collagen thermal denaturation and solubilization. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 307-311, 2000.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologia**. Viçosa: UFV, 2012. 599 p.

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

RUSSO, E.; DRIGO, M.; LONGONI, C.; PEZZOTTI, R.; FASOLI, P.; RECORDATI, C. Evaluation of White Striping prevalence and predisposing factors in broilers at slaughter. **Poultry Science**, v. 94, n. 8, p. 1843-1848, 2015.

SARCINELLI, M.F., VENTURINI, K.S., SILVA, L.C. **Estrutura da Carne**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01807 Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2007.

SCOTT, J. E. Proteoglycan-fibrillar collagen interactions. **Journal Biochemistry**, 252:313-323, 1988.

SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I.; KRIESE, P.R.; SOARES, A.L. Calpaínas e Calpastatinas. In: OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.G.M. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. São Paulo: Varela, 2006. p. 185-194.

SIHVO, H.K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. **Veterinary Pathology**, v.51, p. 619–623, 2013.

SIMÕES, G.S.; OBA, A.; MATSUO, T.; ROSSA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E. I. Vehicle thermal microclimate evaluation during Brazilian summer broiler transport and the occurrence of PSE (Pale, Soft, Exsudative) meat. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.195-204, 2009.

SINDIAVIPAR. Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná. **Estatísticas**. Disponível em: <<https://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=8&acao=frango>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

SILLER, W.G. Deep pectoral myopathy: A penalty of successful selection for muscle growth. **Poultry Science**, v.64, p.1591-1595, 1985.

SOARES, A.L.; LARA, J.A.F.; IDA, E.I.; GUARNIERI, P.D.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Variation in the color of Brazilian broiler breast fillet. Proceedings of International. **Congress of Meat Science and Technology**, Roma, v.48, p.540-541, 2002.

SOARES, A. L.; IDA, Elza louko ; MIYAMOTO, Sayuri ; BLAZQUEZ, Francisco J H ; OLIVO, Rubison ; PINHEIRO, João W ; SHIMOKOMAKI, Massami . Phospholipase A2 activity in PSE (Pale, Soft, Exudative) meat related to the chicken advancing in age. **Feedinfo News Service**, Waterford, 2004.

SOIKE, D. & BERGMANN, V. Comparison of skeletal muscle characteristics in chicken bred for meat or egg production. I. Histopathological and electron microscopic examination. **Journal of Veterinary Medicine**, v.45, p.161-167, 1998.

SOSNICKI, A. A.; WILSON, B. W. Pathology of turkey skeletal muscle: implications for the poultry industry. **Food Struct.** 10:317–326, 1991.

SOSNICKI, A.A. **Focal myonecrosis effects in turkey muscle tissue**. Reciprocal Meat Conference Proceedings Volume 46, American Meat Science Association/National Live Stock and Meat Board, Chicago, p.97-102, 1993.

SOSNICKI AA, GREASER ML, PIETRZAK M, POSPIECH E, SANTE V. PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys: a review. **Journal Muscle Foods**, Trumbull, 9:13-23, 1998.

SOUZA, P.S. Comparação dos efeitos da temperatura de cocção e espessura da lâmina de corte na força máxima de cisalhamento Warner-Bratzler, no *Longissimus dorsi* e determinação de um modelo matemático que correlacione estes parâmetros com a força máxima de cisalhamento. **PubVet**, v.2, n.7, ed.18, art.155, 2008.

SIHVO, H. K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broiler. **Veterinary Pathology**. 51:619–623. 2013.

STANTON, C., LIGHT, N. The Effects of Conditioning on Meat Collagen: Part 1- Evidence for Gross in situ Proteolysis. **Meat Science**, v. 21, p. 249 – 265, 1987.

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 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 719-757.

SWATLAND, H. J. Explain the P in PSE. **Meat Focus International**, Wallingford, v. 2, p. 362 – 367, 1993.

SWATLAND, H. J. **Structure and Development of Meat Animals and Poultry**. Boca Raton: CRC Press, p. 606, 1994.

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

TORTORA, G.J.; DERRICKSON, B. **Principles of Anatomy and Physiology**. 13 ed. Massachusetts: Wiley, 2012, 1222 p.

VELLEMAN, S.; CLARK, D. L. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. **Avian Diseases**. Department of Animal Sciences, Ohio Agricultural Research and Development Center, The Ohio State University, Wooster, OH 44691, 2015.

VEISETH, E.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Effect of post mortem storage on m-calpain in ovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 1502-1508, 2001.

VOGEL, K. G.; PAULSSON, M.; HEINEGIRD, D. Specific inhibition of type I and type I1 collagen fibrillogenesis by the small proteoglycan of tendon. **Journal Biochemistry**. 22337-597, 1984.

WILSON, B. W.; NIEBERG, P. S.; BUHR, R. J. Turkey muscle growth and focal myopathy. **Poultry Science**. 69:1553–1562, 1990.

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

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno** [dissertação de mestrado]. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.

ZANG, S. X.; FAROUK, M. M.; YOUNG, O. A.; WIELICZKO, K. J.; PODMORE, C. Functional stability of frozen normal and high pH beef. **Meat Science**, v. 69, p. 765-772, 2005.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em futuro estudo seria interessante avaliar a Capacidade de Emulsificação (CE) de um filé *Wooden Breast* com relação ao filé normal para fornecer maiores informações à indústria alimentícia. É sabido que *filés Wooden Breast* possuem maior teor de colágeno total e menor teor de colágeno solúvel, então seria interessante quantificar, em outras análises, a piridinolina, a fim de correlacionar com a textura. Testes sensoriais, avaliando maciez, suculência, textura, sabor e cor, poderiam ser conduzidos para descobrir a aceitação do consumidor diante do filé de peito *Wooden Breast* cozido.

ANEXO A

Ofício Circular CEUA nº 41/2016 – Comissão de Ética no Uso de
Animais



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 41/2016

Londrina, 08 de Março de 2016.

Prezada Pesquisadora,


Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação e caracterização da miopatia Wooden Breast em filés de frango", protocolo CEUA nº 3156.2016.71, 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/UUEL), em reunião realizada em **01/03/2016**.

O projeto tem como objetivo caracterizar a miopatia Wooden Breast do músculo Pectoralis major com relação aos parâmetros bioquímicos e estruturais em uma linha comercial de abate. Será realizado um experimento com coleta de filés de frango após abate realizado em frigorífico com S.I.F que segue as práticas de bem-estar animal e a legislação brasileira. Os animais não serão manipulados pelos estudantes nem pelos pesquisadores, e nenhuma etapa de abate será alterada. Será adotado um delineamento inteiramente ao acaso, totalizando coleta de 1.120 filés de peito de frango. GI = 1.

Vigência do Projeto	04/04/2016 a 17/02/2017
Espécie/linhagem	Ave / Cobb
Nº de animais	1120
Peso/idade	2,5kg / 42 dias
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Abatedouro 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/UUEL anteriormente à execução das modificações.

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


 Prof. Dra. Glaucia Scantamburlo Alves Fernandes
 Coordenadora da CEUA/UUEL

Ilma Sra

Prof. Dra. Adriana Lourenço Soares Russo

Coordenadora do Projeto

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos / Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para André Junior da Conceição (Chefe da DP-IC/PROPPG), Chefe do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Diretor(a) do Centro de Ciências Agrárias

ANEXO B

Normas para submissão de artigos da revista Pesquisa Agropecuária
Brasileira (PAB).

Diretrizes para os autores

1. Escopo e política editorial

A revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas, Novas Cultivares e Revisões a convite do Editor.

2. Forma e preparação de manuscritos

Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos e não podem ter sido encaminhados a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas, Novas Cultivares e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais

são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência".

Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.

Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.

Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.

Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os

resultados e a conclusão.

Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.

O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.

Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.

Não devem conter palavras que componham o título.

Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.

Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus (http://www.fao.org/aims/ag_intro.htm) ou no Índice de Assuntos da base SciELO (<http://www.scielo.br>).

Introdução

A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

Deve ocupar, no máximo, duas páginas.

Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.

O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as

letras iniciais.

Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.

Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.

Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.

Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.

Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.

Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.

Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Deve ocupar quatro páginas, no máximo.

Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.

As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.

Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.

Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.

Dados não apresentados não podem ser discutidos.

Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.

As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.

Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.

As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.

Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.

Não podem consistir no resumo dos resultados.

Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.

Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições).

Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.

Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.

Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.

Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.

Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.

Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.

Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.

Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: <<http://www.cpa0.embrapa.br/publicacoes/ficha.php?tipo=DOC&num=66&ano=2004>>. Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados.

A autocitação deve ser evitada.

Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

Redação das citações dentro de parênteses

Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano

de publicação.

Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.

Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.

Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

Redação das citações fora de parênteses

Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.

Devem ser auto-explicativas.

Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.

Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.

O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e

das variáveis dependentes.

No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.

Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.

Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.

Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.

Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.

As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

Notas de rodapé das tabelas

Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.

Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de

linha, separadas por ponto.

Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.

Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.

O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.

Devem ser auto-explicativas.

A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.

O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.

Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.

Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).

Não usar negrito nas figuras.

As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.

Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.

As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

Resumo com 100 palavras, no máximo.

Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Novas Cultivares

Novas Cultivares são breves comunicações de cultivares que, depois de testadas e avaliadas pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA), foram superiores às já utilizadas e serão incluídas na recomendação oficial.

Apresentação de Novas Cultivares

Deve conter: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, título em inglês, Abstract, Introdução, Características da Cultivar, Referências, tabelas e figuras. As normas de apresentação de Novas Cultivares são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

Resumo com 100 palavras, no máximo.

Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

Deve apresentar, no máximo, 15 referências e quatro ilustrações (tabelas e figuras).

A introdução deve apresentar breve histórico do melhoramento da cultura, indicando as instituições envolvidas e as técnicas de cultivo desenvolvidas para superar determinado problema.

A expressão Características da Cultivar deve ser digitada em negrito, no centro da página.

Características da Cultivar deve conter os seguintes dados: características da planta, reação a doenças, produtividade de vagens e sementes, rendimento de grãos, classificação comercial, qualidade nutricional e qualidade industrial, sempre comparado com as cultivares testemunhas.

Outras informações

Não há cobrança de taxa de publicação.

Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.

O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.

Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da **PAB**.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61) 3448-4231 e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: pab@sct.embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica
Pesquisa Agropecuária Brasileira - PAB
Caixa Postal 040315
CEP 70770 901 Brasília, DF

3. Envio de manuscritos

Os manuscritos devem ser submetidos conforme instruções contidas no endereço: <http://www.sct.embrapa.br/seer>