



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TALITA KATO

**CLASSIFICAÇÃO POR ANÁLISE DE IMAGENS E
CARACTERIZAÇÃO DA MIOPATIA WHITE STRIPING EM
FILÉS DE FRANGO POR MEIO DE PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS, ESTRUTURAIS E SENSORIAIS**

Londrina
2017

TALITA KATO

**CLASSIFICAÇÃO POR ANÁLISE DE IMAGENS E
CARACTERIZAÇÃO DA MIOPATIA WHITE STRIPING EM
FILÉS DE FRANGO POR MEIO DE PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS, ESTRUTURAIIS E SENSORIAIS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Lourenço Soares.

Coorientador: Prof. PhD. Massami Shimokomaki.

Londrina
2017

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

Kato, Talita .

Classificação por análise de imagens e caracterização da miopatia White Striping em filés de frango por meio de parâmetros bioquímicos, estruturais e sensoriais / Talita Kato. - Londrina, 2017.

116 f. : il.

Orientador: Adriana Lourenço Soares .

Coorientador: Massami Shimokomaki.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Carne de Aves - Tese. 2. Colágeno - Tese. 3. Estrias Brancas - Tese. 4. Histologia - Tese. I. Lourenço Soares , Adriana . II. Shimokomaki, Massami. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

TALITA KATO

**CLASSIFICAÇÃO POR ANÁLISE DE IMAGENS E
CARACTERIZAÇÃO DA MIOPATIA WHITE STRIPING EM FILÉS DE
FRANGO POR MEIO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
ESTRUTURAIS E SENSORIAIS**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Lourenço
Soares
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Ana Maria Bridi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Margarida Masami Yamaguchi
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dr. Denis Fabrício Marchi
Instituto Federal Paraná – IFPR

Profa. Dra. Gislaine Silveira Simões
Instituto Federal Paraná – IFPR

Londrina, 24 novembro de 2017.

Aos meus pais, Fábio e Shirley
pelo carinho, compreensão e
apoio incondicional em todos os
momentos DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Adriana L. Soares pela orientação, apoio, carinho, e ensinamentos que auxiliaram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Massami Shimokomaki (*in memoriam*) pela coorientação, incentivo e ensinamentos valiosos que irei levar para a vida toda, obrigada professor.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Sylvio Barbon Jr. e sua equipe (Saulo Mastelini, Gabriel Campos e Ana Paula Barbon) do Departamento de Computação da UEL e Ciência Animal pelo apoio em todo o desenvolvimento e realização das análises de imagens.

À Profa. Dra. Ana Paula F. R. L. Bracarense e sua equipe (Thalita E. S. de Oliveira e Felipe H. O. de Pinho) do Departamento de Medicina Veterinária da UEL pelo auxílio na realização das análises histológicas.

À Profa. Dra. Sandra H. Prudencio pelo auxílio no planejamento das análises sensoriais.

Ao Moisés Grespan e toda a sua equipe do frigorífico pela colaboração e fornecimento das amostras utilizadas neste trabalho.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (professores) e toda equipe (Alessandra Silva, Patrícia Sambatti e Sandra Rezende) pela colaboração e apoio.

À Danielle C. B. Honorato pela grande amizade e parceria em todos os momentos dos experimentos.

Ao grupo de carnes, em especial a Bruna Auriema pela grande amizade (dentro e fora da UEL) e auxílio na parte experimental; Fernanda Mendonça pelo apoio nos mutirões; Juliana Almeida pelo auxílio no frigorífico e companheirismo nesta jornada; Rosana Buzanello pela amizade e todas as dicas indispensáveis.

Aos estagiários de iniciação científica, em especial à Thaís Dornellas e Verena Dinalli pela grande amizade e apoio no desenvolvimento do trabalho (nas madrugadas e finais de semana), obrigada meninas.

Aos amigos: Alyson (e Priscila), Ariana Justus (prima querida), Bruna Böger, Dafne Pereira, Marsilvio Filho, Mirelli Bianchin, Natália Bom (pela paciência nos telefonemas), Sabrina Penteado, Thaisa Marcello pelo auxílio em todos os sentidos, momentos incríveis de convivência e acima de tudo pela amizade que ficará guardada para sempre.

A todos os amigos que tive a felicidade de conhecer e conviver, em especial à Cintia Handa (pelas melhores aulas de japonês), Cintia Kaminishikawahara, Daneysa Kalschne (o supermercado nunca será o mesmo), Denise Prates, Fernando Sanches, Katri Gasparin, Marcela Guelfi, Raissa Bonfante, Vitor Marengo, Vitor Tsuru.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

KATO, Talita. **Classificação por análise de imagens e caracterização da miopatia white striping em filés de frango por meio de parâmetros bioquímicos, estruturais e sensoriais**. 2017. 116 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O *White striping* (WS) é um fenômeno que se caracteriza pelo aparecimento de vários graus de estrias esbranquiçadas que seguem a direção da fibra muscular em cortes como peito e coxas de frango. O WS pode ser classificado em: Normal (NORM), Moderado (MOD) ou Severo (SEV), dependendo da gravidade e espessura das estrias brancas na superfície dos filés de frango. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o fenômeno WS em um abatedouro comercial no sul do Brasil: propor um sistema de classificação dos filés de frango por análise de imagens para separar os diferentes graus do WS; verificar a reação dos consumidores com auxílio de análises sensoriais (Aceitação e Intenção de compra); verificar a incidência do WS em filés de frango retirados de uma linha de processamento; verificar valores de pH, cor, dimensões do tamanho e análise histológica das amostras com auxílio da microscopia óptica. Por fim, avaliar a composição centesimal, teor de colágeno total e solúvel, capacidade de retenção de água, perda por cozimento, pH, capacidade de emulsificação e perfil de ácido graxos entre os diferentes graus de severidade do WS. O sistema de classificação por imagem provou ter grande acurácia (> 70%) e ser mais rápido e robusto do que o método de classificação visual. A análise sensorial verificou que a miopatia WS afeta negativamente a textura das amostras quando grelhadas, e aparência das amostras cruas, o que influenciaram as notas de Intenção de Compra. A incidência do WS foi (n=660) de 16,97%; 51,67%; 31,36% para amostras NORM, MOD e SEV, respectivamente. Não foram verificadas diferenças significativas para os valores de pH, dos parâmetros a* e b* e capacidade de emulsificação. As amostras MOD e SEV apresentaram altos valores para o parâmetro L* e maiores espessuras da região cranial. Neste estudo verificou-se a presença de citoplasma fragmentado e infiltrado inflamatório, e aumento do diâmetro das fibras nas amostras SEV. As amostras SEV também apresentaram 27% mais lipídios, 29% mais colágeno, 26% mais perdas por cozimento e 27% maiores na força de cisalhamento em amostras cozidas quando comparadas com amostras NORM. Os ácidos graxos: 17:1n9 e 20:4n6 apresentaram as maiores porcentagens para as amostras SEV quando comparadas as demais classificações. Já para o ácido graxo 18:1n7 foi observado o oposto, pois apresentou as menores porcentagens para as amostras SEV. Os ácidos graxos 20:3n6, 22:5n6 apresentaram as maiores proporções para as amostras Normais. A miopatia WS representa prejuízos econômicos às indústrias, devido a rejeição dos consumidores no momento da compra além de provocarem modificações na composição química e estrutural dos filés. Porém, não foram verificadas diferenças significativas em propriedades funcionais, então a utilização destas carnes no desenvolvimento de processados cárneos pode não ocasionar mudanças ou defeitos tecnológicos.

Palavras-chave: Aceitação. Carne de Aves. Colágeno. Estrias Brancas. Histologia.

KATO, Talita. **Classification image analysis and characterization of White Striping myopathy in chicken fillets by means of biochemical, structural and sensory parameters**. 2017. 116 p. Thesis (Doctoral degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

White Striping (WS) is a phenomenon characterized by the appearance of various degrees of White striations that follow the direction of the muscle fiber in cuts such as breast and chicken thighs. It can be classified into: Normal (NORM), Moderate (MOD) or Severe (SEV), depending on the severity and thickness of the white striations on the surface of the chicken fillets. The objective of this work was to characterize the WS phenomenon in a commercial slaughterhouse in southern Brazil: to propose a classification system for chicken fillets by image analysis to separate the different grades of WS; verify the reaction of the consumers with the aid of sensorial analysis (Acceptance and Intention to buy); to verify the incidence of WS in chicken fillets taken from a processing line; verify values of pH, color, size and histological analysis of the samples with the aid of light microscopy. Finally, to verify the centesimal composition, total and soluble collagen content, water retention capacity, cooking loss, pH, emulsification capacity and fatty acid profile among the different degrees of severity of WS. The image classification system proved to be highly accurate (> 70%) and to be faster and more robust than the visual classification method. Sensory analysis verified that WS myopathy negatively affects the tenderness of the samples when grilled, and the appearance of raw samples, which influenced the Purchase Intention notes. The incidence of WS was (n = 660) 16.97%; 51.67%; 31.36% for NORM, MOD and SEV samples, respectively. No significant differences were found for pH values, a* and b* parameters and emulsification capacity. The MOD and SEV samples presented high values for the parameter L* and greater thicknesses of the cranial region. The presence of fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate, and increase of the diameter of the fibers in the SEV samples were verified. SEV samples also showed 27% more lipids, 29% more collagen content, 26% more cooking losses and 27% higher shear force in cooked samples when compared with NORM samples. The fatty acids: 17:1n9 and 20:4n6 presented the highest percentages for the SEV samples when compared to the other classifications. For the fatty acid 18:1n7, the opposite was observed, as it presented the lowest percentages for the SEV samples. The fatty acids 20:3n6, 22:5n6 presented the highest proportions for the Normal samples. WS myopathy represents economic losses to the industries, due to the rejection of the consumers at the time of purchase besides causing changes in the chemical and structural composition of the fillets. However, no significant differences in functional properties were observed, so the use of these meats in the development of processed meat may not cause changes or technological defects.

Keywords: Acceptance. Collagen. Histology. Poultry meat. White Striations.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Representação esquemática da organização estrutural de uma fibra Muscular17
- Figura 2.** Representação do sarcômero e algumas de suas proteínas estruturais.....19
- Figura 3.** Classificação dos filés de peito de frango, a partir do grau de gravidade do White striping: A) Normal; B) Moderado; C) Severo31

ARTIGO CIENTÍFICO 1 – EVALUATION OF PHYSICAL CHEMICAL, MICROSCOPICALLY PARAMETERS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BROILER BREAST WITH WHITE STRIPING

- Figure 1.** Histological section of skeletal muscle (SEV samples). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fibers with fragmented cytoplasm. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 um).58
- Figure 2.** Histological section of skeletal muscle (SEV sample). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fiber with fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate (arrow). Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 um)58
- Figure 3.** Histological section of skeletal muscle (NORM sample). Muscular fibers in longitudinal section with normal aspect. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 um)58

ARTIGO CIENTÍFICO 2 – POULTRY MEAT WHITE STRIPING DEGREE ASSESSMENT USING COMPUTER VISION SYSTEM AND CONSUMER ACCEPTANCE TEST

- Figure 1.** Overview of the Proposed System80
- Figure 2.** Steps of meat segmentation approach: (a) Original image; (b) Background subtraction; (c) Extremely bright pixel removal; (d) Small region removal.....82
- Figure 3.** Image processing steps of proposed approach: (a) Original image; (b) Illumination normalization; (c) Meat mask match; (d) Extremely bright pixels filling; (e) Contrast enhancement.....84

Figure 4. Boxplot of model accuracy in classification of NORM, MOD, and SEV poultry meat WS degree.....	90
Figure 5. Importance of image features for WS degree assessment.....	91
Figure 6. Accumulated misclassification predictions over 50 executions for classification of poultry meat samples in NORM, MOD, and SEV white striping 10 degrees.....	92
Figure 7. Image 3 (Sample 4), a NORM sample misclassified by all ML techniques as SEV: the irregular surface in meat is highlighted and zoomed.....	93
Figure 8. Image 3 (Sample 4), after imaging processing steps: folds in meat were accentuated	94

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO 1: EVALUATION OF PHYSICAL CHEMICAL, MICROSCOPICALLY PARAMETERS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BROILER BREAST WITH WHITE STRIPING

Table 1. Comparative values of WS (MOD and SEV) and NORM breast meat obtained in different countries.....	53
Table 2. Values of pH, color (L*, a*, b*) for chicken breasts classified in different WS degrees.....	54
Table 3. Dimensions of chicken breast meat classified in different WS degrees.....	55
Table 4. Fiber diameter (cross section, increase 40x) of chicken breast meat classified in different WS degree	56
Table 5. Proximate chemical composition, total and soluble collagen, collagen/protein ratio of the NORM and WS samples	59
Table 6. Biochemical parameters of chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV).....	62
Table 7. Results of pH and EC of chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV).....	63
Table 8. Fatty acid profile from chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV).....	64

ARTIGO CIENTÍFICO 2: POULTRY MEAT WHITE STRIPING DEGREE ASSESSMENT USING COMPUTER VISION SYSTEM AND CONSUMER ACCEPTANCE TEST

Table 1. List of all image features extracted	85
Table 2. General results summary of WS degree prediction, ordered by Accuracy.....	90
Table 3. Samples with higher misclassifications rate.....	93
Table 4. Acceptance of sensory attributes and purchase intention of broiler breast fillets classified visually in three degrees of severity of WS myopathy.....	95

Table 5. Acceptance of appearance and purchase intention of broiler breast fillets photos classified visually in three degrees of severity of WS myopathy	96
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a*	Componente vermelho-verde
ANOVA	Análise de variância
b*	Componente amarelo-azul
CRA	Capacidade de retenção de água
CVS	<i>Computer Vision System</i>
FC	Força de Cisalhamento
L*	Luminosidade
MOD	MODERADO = Classificação das amostras com <i>White Striping</i> em grau Moderado
NORM	NORMAL = Classificação das amostras sem estrias
PSE	<i>Pale, Soft, Exudative</i>
PPC	Perdas por cozimento
SEV	SEVERO= Classificação das amostras com <i>White Striping</i> em grau Severo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17	
3.1	COMPONENTES DA ESTRUTURA MUSCULAR	17
3.2	TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE.....	20
3.3	QUALIDADE.....	22
3.3.1	Cor.....	23
3.3.2	Maciez	25
3.3.3	Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	26
3.4	ANÁLISE DE IMAGENS	27
3.5	<i>WHITE STRIPING</i> (WS)	29
3.5.1	Sistema de Classificação do WS	31
3.5.2	Caracterização.....	33
	REFERÊNCIAS	36
4	MATERIAL E MÉTODOS	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
	ARTIGO CIENTÍFICO 1: EVALUATION OF PHYSICAL CHEMICAL, MICROSCOPICALLY PARAMETERS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BROILER BREAST WITH WHITE STRIPING	43
	ARTIGO CIENTÍFICO 2: POULTRY MEAT WHITE STRIPING DEGREE ASSESSMENT USING COMPUTER VISION SYSTEM AND CONSUMER ACCEPTANCE TEST.....	76

CONSIDERAÇÕES FINAIS	111
ANEXO	112
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	113
COMITÊ DE ÉTICA EM SERES HUMANOS.....	114

1 INTRODUÇÃO

A produção brasileira de carne de frango em 2016 foi de 12,900 milhões de toneladas, colocando o Brasil em segundo maior produtor mundial, atrás dos Estados Unidos (18,261 milhões de toneladas). Deste total produzido no Brasil, 90% foram comercializados *in natura* e 10% foram destinados para produtos industrializados (ABPA, 2017).

No mesmo ano, 66,0% da produção brasileira foi destinada ao mercado interno e 34,0% para as exportações. Com isto, o consumo *per capita* de carne de frango foi de 41,10 Kg/hab. E em relação à produção nacional, os três estados do Sul do país permaneceram entre os principais na atividade de abate de frangos, sendo que o estado do Paraná se apresenta na primeira posição com 33,46% (ABPA, 2017). A garantia de manutenção deste mercado consiste no fornecimento de produtos com padrões de qualidade estáveis com o objetivo de promover a satisfação e segurança do consumidor (SIMÕES et al., 2009).

A qualidade da carne representa um dos principais fatores para os consumidores. O primeiro atributo a ser considerado no momento da compra é a cor, um atributo fundamental no que se refere às exigências sensoriais dos consumidores (FLETCHER, 1999). Outro atributo a ser considerado é a textura que está relacionada com a capacidade de retenção de água, teor de gordura e de tecido conjuntivo na carne (LAWRIE, 2005).

A evolução na produção de carne de aves oportunizou uma grande variedade de produtos, com maior elaboração de itens de conveniência, praticidade e valor agregado, em detrimento da comercialização de carcaças inteiras. Os músculos da região do peito das aves apresentam um grande valor comercial. Porém, a intensa seleção genética das linhagens com menor tempo de criação e rápido ganho de peso tem ocasionado fenômenos anormais no tecido muscular, (PEREIRA et al., 2005), como o *White striping*.

O *White striping* (WS) se caracteriza pelo aparecimento de vários graus de estrias esbranquiçadas no músculo *Pectoralis major*, que seguem a direção da fibra muscular. Assim, quando esta miopatia é visualizada nos filés de peito de frango na linha de produção, eles são destinados a produção de processados (PETRACCI et

al., 2014) devido a rejeição dos consumidores pela aparência do produto *in natura* (KUTTAPPAN et al., 2012a).

A etiologia desta miopatia ainda é desconhecida, porém sugere-se estar relacionada com o aumento da taxa de ganho de peso e com a idade da ave. Sabendo disso, Kuttappan et al. (2009; 2012a) desenvolveram uma classificação subjetiva com os graus de severidade do WS em filés de frango, e muitos estudos tem se baseado nesta classificação para tentar caracterizar este fenômeno. Além disso, estes mesmos autores tentaram classificar os filés pela metodologia de análise de imagens, mas encontraram problemas para validar a técnica. O desenvolvimento de métodos computacionais que realizem esta classificação, além de uma série de análises bioquímicas e estruturais para caracterizar o fenômeno são necessários para elucidar este problema.

Atualmente são poucos os estudos relacionados a este fenômeno na carne de frango, quando comparados com outras miopatias. E a adoção de medidas preventivas para o controle desta miopatia tem dificultado a tomada de decisões seguras para o consumidor. Devido a estas incertezas com relação aos filés de frango acometidos com o WS, torna-se necessário a busca de mais informações sobre o tema para melhores esclarecimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a miopatia *White Striping* do músculo *Pectoralis major* com relação aos parâmetros bioquímicos, estruturais, sensoriais em uma linha comercial de abate e classificar por análise de imagem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a incidência dos filés de frango com a miopatia *White striping* e seus diferentes graus de severidade: Normal, Moderado, Severo em um abatedouro comercial.
- Caracterizar os filés com *White striping* com relação à análises de composição centesimal, teor de colágeno (total e insolúvel), pH, cor (L*, a*, b*), força de cisalhamento, capacidade de retenção de água, perda de peso por cozimento, capacidade de emulsificação e perfil de ácidos graxos.
- Verificar as dimensões dos filés e avaliar o diâmetro das fibras musculares e a morfologia geral do tecido através da microscopia óptica de filés de frango classificados como *White striping* (e seus diferentes graus de severidade).
- Desenvolver uma metodologia por análise de imagem que seja capaz de classificar os filés de frango com *White striping* em seus diferentes graus de severidade.
- Verificar a aceitação e intenção de compra dos consumidores em relação aos diferentes graus do *White striping* nos filés de frango.

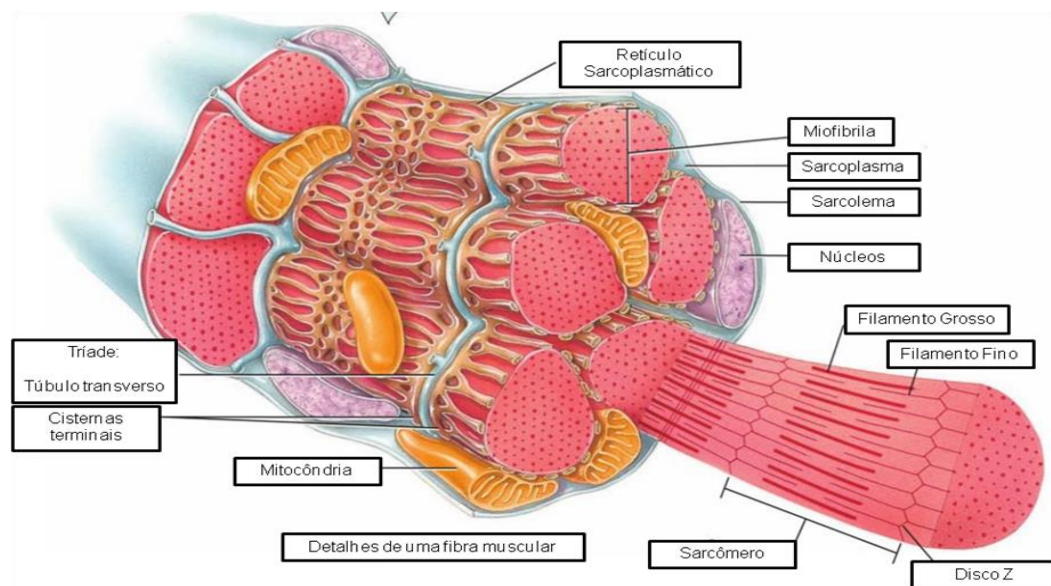
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 COMPONENTES DA ESTRUTURA MUSCULAR

A composição da carne pode ser estimada, em termos gerais, com 75% de água, 19% de proteínas, 3,5% de substâncias não protéicas solúveis e 2,5% de gordura. Apesar destas proporções, o comportamento da carne e sua variabilidade não podem ser baseados em tais simplificações (LAWRIE, 2005).

A descrição da estrutura do músculo e seus componentes básicos (Figura 1) são de extrema importância para a compreensão dos fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a transformação do músculo (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Figura 1 – Representação esquemática da organização estrutural de uma fibra muscular



Fonte: Tortora; Derrickson (2009. Adaptado)

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 a outra, e são responsáveis pela forma estriada, característica do músculo (SWATLAND, 1994; SGARBIERI, 1996; LAWRIE, 2005; ORDÓÑEZ et al., 2005; TORTORA; DERRICKSON, 2009; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Estas estruturas oscilam em limites em uma mesma

espécie, variando de 10 a 100 μm de diâmetro, e vão de poucos milímetros a vários centímetros de comprimento (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

As fibras musculares são constituídas por uma membrana externa, denominada sarcolema, e de um citoplasma, denominado sarcoplasma (SGARBIERI, 1996; TORTORA; DERRICKSON, 2009). O sarcoplasma é constituído por uma substância coloidal intracelular, com uma matriz citoplasmática com 75 a 85% de água, onde estão suspensas gotículas de gordura, grânulos de glicogênio e organelas, assim como nutrientes, enzimas e inúmeros compostos inorgânicos (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

O músculo é envolvido por uma camada externa de tecido conjuntivo chamado epimísio. Os delgados septos que se estendem para dentro e envolvem todos os feixes constituem o perimísio. E a unidade de tecido conjuntivo que envolve cada fibra recebe a denominação de endomísio (SGARBIERI, 1996; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Outra organela típica da fibra muscular é a miofibrila. Elas são estruturas cilíndricas, compridas e delgadas (ORDÓÑEZ et al., 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013) que apresentam diâmetros uniformes e larguras similares (aproximadamente 0,5-1,0 μm) (MCCORMICK, 1994).

As miofibrilas são formadas por unidades estruturais repetitivas denominadas sarcômeros. Nos sarcômeros estão todas as estruturas elementares necessárias para a contração muscular a nível molecular (LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010). Quando a fibra muscular é exposta à luz polarizada, duas regiões podem ser observadas: regiões claras que apresentam refração simples, isotrópicas (desviam a luz polarizada em uma só direção), denominadas de bandas I; e regiões escuras, que apresentam refração dupla, anisotrópica, denominadas bandas A (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Assim, o sarcômero é dividido em quatro componentes majoritários: linha Z, Banda I, Banda A, linha M, sendo delimitado por duas linhas Z ou discos Z (ORDÓÑEZ et al., 2005; TORTORA; DERRICKSON, 2009; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

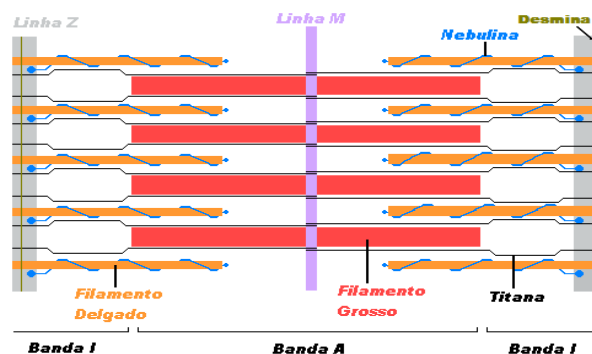
Estima-se através da análise proteômica que mais de 65 proteínas compõem a estrutura do sarcômero (FRATERMAN et al., 2007). No entanto o número real é provavelmente muito maior do que isso, pois nesta análise não levou em conta as múltiplas isoformas das proteínas (LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

Outros componentes celulares são as mitocôndrias que utilizam oxigênio e outros substratos para produzir energia sob a forma de adenosina trifosfato (ATP), e do retículo endoplasmático que é responsável pela regulação dos íons cálcio (Ca^{+2}) no interior da fibra muscular e, como resultado, possui um desempenho relevante sobre a atividade de contração muscular. Dentro do músculo, esta organela é referida como retículo sarcoplasmático (FAUSTMAN, 1994; TORTORA; DERRICKSON, 2009; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Existem também outras estruturas, como os núcleos e os lisossomos. Como a fibra muscular é multinucleada, geralmente, uma fibra pode ter milhares de núcleos localizados na periferia imediatamente abaixo do sarcolema. Já os lisossomos estão localizados no interior da fibra e contêm uma grande variedade de enzimas importantes na bioquímica muscular (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os principais componentes do sarcômero do músculo estriado (Figura 2) incluem disposições paralelas de actina contendo filamentos finos que cobrem a banda I e se sobrepõem a miosina contendo filamentos grossos na banda A. O terceiro sistema de filamentos é composto por moléculas de titana que abrangem metade do sarcômero. A nebulina, abrange o comprimento dos filamentos de actina e as formas do quarto sistema de filamentos no músculo esquelético. Os discos Z representam as fronteiras laterais do sarcômero, onde os filamentos finos: titana e nebulina se encontram, e são estes discos que auxiliam na manutenção da homeostase muscular (CLARCK et al., 2002).

Figura 2 - Representação do sarcômero e algumas de suas proteínas estruturais



Fonte: Shimokomaki et al. (2006)

As proteínas do músculo podem ser divididas em três classes: proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas ou do estroma (SGARBIERI, 1996). As proteínas

sarcoplasmáticas são caracterizadas por serem solúveis em soluções de força iônica igual ou menor que 0,1 em pH neutro. Esta fração constitui cerca de 30-35% da proteína total da musculatura esquelética, e contém de 100 a 200 proteínas diferentes, como a mioglobina e enzimas do metabolismo celular (SGARBIERI, 1996).

Os músculos do peito de frango contêm concentração de mioglobina inferior a 1 mg.g^{-1} , enquanto que o músculo de bovinos adultos a quantidade pode situar-se em torno de 10 mg.g^{-1} de músculo (ORDÓÑEZ et al., 2005). As proteínas miofibrilares são constituídas de proteínas que são extraídas em soluções de força iônica entre 0,5 e 1,0.

A maioria das proteínas miofibrilares são solúveis em água, mesmo sendo necessário uma elevada força iônica para romper as miofibrilas (SGARBIERI, 1996). Como representantes deste grupo tem-se em maior proporção a miosina (com 50-58% do total) e a actina (15-20%), e em menores quantidades, a tropomiosina, troponina, proteína M, proteína C e outras proteínas. As proteínas miofibrilares representam de 52-56% de toda a proteína muscular (SGARBIERI, 1996; ORDÓÑEZ et al., 2005).

As proteínas do estroma são insolúveis em solventes aquosos. Essa fração representa de 10-15% de toda a proteína do músculo esquelético e inclui mucoproteínas das membranas celulares, lipoproteínas, e as proteínas do tecido conjuntivo. O colágeno é o seu principal representante com 40-60% das proteínas, enquanto a elastina representa de 10-20% do total desta fração (SGARBIERI, 1996).

3.2 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE

Após o abate, a fibra muscular deve alterar o seu metabolismo para adaptar-se às novas condições e manter a homeostasia que permita seu funcionamento (SWATLAND, 1994). A transformação do músculo em carne é realizada a partir de três fases bioquímicas: *pré-rigor*, *rigor* e amaciamento (OUALI et al., 2006). O início e a extensão do *rigor mortis* são bioquimicamente caracterizados pelo teor de compostos ricos em energia, incluindo ATP fosfato, creatina e glicogênio, em conjunto com as atividades da ATP quinase e as enzimas glicolíticas no músculo (JIANG, 1998).

Após a parada da circulação sanguínea devido à sangria, interrompe-se a distribuição de oxigênio e nutrientes para as células (OUALI et al., 2006). A glicólise anaeróbica se torna a principal via metabólica para geração de ATP (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

Os produtos de metabolismo anaeróbico (glicólise) não podem ser removidos e se acumulam no tecido, o que resulta em acumulação de ácido láctico, provocando uma diminuição gradual do pH do tecido de 7,0 para 5,6. Entretanto, para frangos que passaram por reações de estresse que apresentaram características de carnes PSE (*Pale, Soft, Exudative*), verificou-se que a glicólise iniciou com o valor de pH 6,04 e atingiu o pH final de 5,55 em 10-15 minutos, e para aves calmas o pH inicial de 6,25 reduziu mais lentamente, apresentando um pH final mais elevado (pH 5,65), obtido em aproximadamente 30 minutos (OLIVO et al., 2001).

Além do valor do pH final da carne, a taxa de declínio desse pH também pode ser afetada pelos mesmos fatores que interferem no conteúdo de glicogênio pré-abate (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

A temperatura do músculo tem grande influência na velocidade da glicólise *post-mortem*. As temperaturas elevadas (em torno de 40°C) aceleram a queda de pH, enquanto em baixas temperaturas, as mesmas retardam a queda, sendo necessária um maior intervalo de tempo para que o músculo permaneça com o pH estabilizado (ORDÓÑEZ et al., 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

De modo geral, músculos em que predominam fibras de contração rápidas, as denominadas fibras brancas, apresentam uma maior taxa de declínio do pH, enquanto em músculos de contração lenta, com predominância de fibras vermelhas, a taxa de declínio é menor (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

O músculo é sensível ao ATP e Ca^{2+} ambos envolvidos no processo de contração e relaxamento (JIANG, 1998; MALTIN et al., 2003). A ressíntese ineficiente do ATP pela glicólise anaeróbica não pode manter o nível de ATP. Quando há o esgotamento da quantidade de ATP, e aumento nos níveis de Ca^{2+} (MCCORMICK, 1994; JIANG, 1998; SAMS, 1999; MALTIN et al., 2003; LAWRIE, 2005) com a concentração de cálcio de 10 a 150 vezes maior no sarcoplasma, atingindo concentrações próximas de 10^{-6} a 10^{-5} M (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013), as moléculas de actina e miosina permanecem unidas. Esta união é denominada, actomiosina, e possui uma estrutura inextensível (MCCORMICK, 1994; JIANG, 1998; SAMS, 1999; MALTIN et al., 2003; LAWRIE, 2005).

O músculo se torna inextensível, os filamentos finos e grossos permanecem presos e juntos pelas pontes cruzadas de miosina e o amaciamento não tem início até os filamentos recuperarem a capacidade de deslizar um sobre o outro (ORDÓÑEZ et al., 2005). O ponto exato em que a conversão do músculo em carne é completa é difícil de avaliar, embora o estabelecimento do *rigor mortis* seja geralmente aceito a ser neste momento (FAUSTMAN, 1994).

O desenvolvimento do *rigor mortis* pode ser acompanhado pela queda de ATP após a morte do animal. De forma similar, a concentração de inosina monofosfato (IMP) também fornece um indicativo do estado de *rigor* em que se encontra o músculo (FAUSTMAN, 1994).

Após a instalação do *rigor*, durante o armazenamento das carnes, há uma diminuição na dureza da carne que pode durar poucos dias para frangos, suínos e cordeiros, e até duas semanas para bovinos (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010). Este processo de amaciamento é denominado de maturação e ocorre devido à ação de enzimas proteases (FAUSTMAN, 1994; KOOHMARAIE et al., 2002).

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

3.3 QUALIDADE

O termo qualidade da carne pressupõe um termo bastante amplo e complexo, pois envolve diversos aspectos inter-relacionados, que englobam todas as etapas da cadeia agroindustrial desde a criação do animal até o preparo para o consumo final da carne *in natura* e de produtos cárneos processados. O conceito em si varia conforme as classes econômicas, as diferentes visões industriais e de acordo com as próprias características de cada consumidor com as suas preferências individuais (CASTILLO, 2006).

A produção mundial de carne tem aumentado consideravelmente. Juntamente com esta demanda, o consumidor aprimora as suas exigências quanto à qualidade que adquire. As características, como: cor, textura (em especial a maciez) e o sabor da carne tem sido tema de variados estudos para desvendar os mecanismos e, ou, fatores responsáveis por essas características e que permitem melhorá-las (RAMOS; GOMIDES, 2012).

As exigências pela qualidade da carne estão cada vez maiores tanto no mercado internacional, quanto no nacional. Essas exigências provocam mudanças e envolvem toda a cadeia produtiva. Tais mudanças incluem desde a produção de um frango com atributos de qualidade melhorados, tendo como alicerce uma alimentação de alto padrão técnico e nutricional, como o aprimoramento das diversas etapas da linha de abate (CASTILLO, 2006).

A garantia da qualidade é um dos objetivos mais importantes para a indústria. A capacidade de gerar produtos com alta qualidade incentiva a lealdade dos consumidores e um espaço no mercado que está em constante expansão. Os métodos de garantia de qualidade utilizados na indústria de alimentos devem ser métodos automáticos e rápidos, que apesar de seu alto custo inicial, esses sistemas estão se tornando cada vez mais populares (GUNASEKARAN, 1996).

Dentre todos os parâmetros de qualidade a aparência do produto é o atributo mais importante avaliado pelos consumidores no momento da compra de uma carne, pois qualquer desvio da aparência considerada como normal de um produto resultará na rejeição do mesmo, independente de outras qualidades intrínsecas superiores (KUTTAPPAN et al., 2012a).

3.3.1 CoR

A cor é um atributo de qualidade importante resultante da interação entre a luz, o objeto e o observador (FERNÁNDEZ; CASTILLERO; AGUILERA, 2005). A cor é um fator de qualidade de extrema importância para a comercialização e consumo de carnes. A cor da carne é o primeiro parâmetro a ser avaliado pelo consumidor (RAMOS; GOMIDES, 2012) e depende da presença dos pigmentos heme musculares, como a: mioglobina (CASTILLO, 2006), e outros pigmentos como citocromos, mas com uma pequena contribuição para cor (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A molécula de mioglobina é formada por uma porção protéica denominada globina, e por um grupo prostético de natureza não-protéica: anel ou grupo heme, ferro portoporfirina IX. A globina encontra-se dobrada em oito segmentos helicoidais em torno do grupo heme, formado por quatro anéis pirrólicos, unidos por pontes metínicas e providos de restos de metila, vinila e ácido propiônico e de um átomo de ferro no centro. O átomo de ferro pode encontrar-se em estado reduzido (Fe^{2+} ,

ferroso), dando origem a oximioglobina, ou oxidado (Fe^{3+} , férrico), dando origem a metamioglobina (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Cada uma delas oferece um espectro de absorção diferente: a mioglobina oferece a tonalidade púrpura, a metamioglobina, o tom pardo, e a oximioglobina, a cor vermelho - vivo (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O teor destes pigmentos e, ou, a proporção relativa entre suas formas químicas varia de acordo com a espécie e genética, o grau de atividade muscular, a forma de criação e a dieta do animal, a disponibilidade de oxigênio para o animal ou durante a estocagem da carne, o ambiente em que a carne é estocada, o pH da carne e sua evolução pós-abate, as tecnologias empregadas durante o abate dos animais, entre outros fatores (RAMOS; GOMIDES, 2012).

A cor observada na superfície das carnes é o resultado da absorção seletiva pela mioglobina, provocada pela distribuição da luz que emerge da carne. Com a diminuição do pH, ocorre aumento da birrefringência, com menos luz sendo transmitida através das fibras e mais luz sendo dispersa (SWATLAND, 2008).

A cor da carne de frango pode ser afetada por vários fatores, como a idade do animal, dieta, gordura intramuscular, conteúdo de umidade, condições de pré-abate e no próprio processamento dessas carnes (CASTILLO, 2006). Podem-se citar alguns processamentos, como: cozimento, a embalagem, a presença e tipo de luz durante o armazenamento, adição de substâncias como sal e nitrito, congelamento e refrigeração (RAMOS; GOMIDES, 2012).

Diversos sistemas para mensurar as cores de produtos alimentícios já foram desenvolvidos. Os mais utilizados atualmente é o sistema *Hunter*, que foi desenvolvido nas décadas de 1950 e 1960, passando por várias modificações. A escala CIE $L^* a^* b^*$ ou CIELab, recomendada pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE). No entanto, esta escala CIELab está ganhando mais espaço nos últimos anos. Os seus parâmetros desta escala são: o parâmetro L^* (luminosidade ou percentagem de reflectância, variando de 0-100, do branco ao preto; a^* variação entre vermelho e verde; e b^* que mede a variação entre o amarelo e o azul (SHIMOKOMAKI et al., 2006; RAMOS; GOMIDES, 2012).

3.3.2 MACIEZ

A textura da carne tem sido estudada por muitos anos e diversos métodos instrumentais têm sido desenvolvidos para substituir a análise sensorial. Porém, os resultados obtidos, nem sempre estão correlacionados com os níveis de maciez obtidos com os avaliadores (CASTILLO, 2006). A textura consiste em um grupo de propriedades e é a manifestação das propriedades reológicas da carne, ou seja, a manifestação sensorial da sua estrutura e a maneira com que essa reage à força aplicada durante o processo de mastigação e a outras sensações específicas envolvidas (RAMOS; GOMIDES, 2012).

Qualquer fator que interfira na formação do *rigor mortis* ou no conseqüente processo de amolecimento da carne afetará sua maciez (CASTILLO, 2006). Fatores, como idade do animal, localização do músculo analisado e sexo do animal são alguns exemplos de parâmetros que modificam a maciez da carne, principalmente devido a diferença de tecido conectivo (RAMOS; GOMIDES, 2012).

O colágeno é a principal proteína estrutural do tecido conectivo e embora a sua concentração no músculo afete negativamente a maciez, a sua principal contribuição à dureza da carne, é devido à quantidade e estabilidade das ligações cruzadas, inter e intramusculares (RAMOS; GOMIDES, 2012).

Coró et al. (2003), observaram que a força de cisalhamento dos peitos de frangos não estava relacionada com a quantidade de colágeno, mas com o aumento da concentração de piridinolina. Ocorreu uma relação inversa entre a solubilidade do colágeno e quantidade de piridinolina. O rápido crescimento das aves e o aumento da síntese de colágeno resultaram em uma carne mais macia, devido a menores formações de ligações cruzadas.

O aquecimento prolongado do colágeno (acima de 75°C) na presença de água, principalmente em meio ácido, converte o colágeno em proteínas solúveis, a gelatina (SGARBIERI, 1996; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). As ligações cruzadas das fibras de colágeno tornam-se mais estruturadas e numerosas a medida que o animal envelhece ou em razão de maior atividade física a que o músculo é submetido, sendo necessárias temperaturas de cocção cada vez maiores para quebrar ou desestabilizar essas ligações e tornar a carne mais macia (RAMOS; GOMIDES, 2012).

Para mensurar e discutir todos estes parâmetros de textura, a análise de maciez da carne pode ser conduzida por métodos subjetivos ou objetivos. Os métodos objetivos podem ser classificados por métodos físicos e químicos. Dentre os métodos físicos, pode-se citar a análise de textura por meio de equipamentos específicos (texturômetros), capazes de avaliar diversos parâmetros reológicos da carne. Já para os métodos químicos, pode-se citar a determinação do tecido conectivo (quantificação e estruturação) e da degradação estrutural pelas enzimas calpaína e catepsina (RAMOS; GOMIDES, 2012).

3.3.3 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)

Um dos fatores que se correlaciona com a suculência da carne é a capacidade de retenção de água (CRA), juntamente com outros elementos, como o teor de gordura (em especial a intramuscular, o marmoreio) (RAMOS; GOMIDES, 2012). Além da suculência, a CRA também pode ser correlacionada com outros fatores como cor, textura, firmeza e maciez (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A capacidade de retenção de água (CRA) é a capacidade da carne em manter a totalidade ou parte de sua própria e/ou água (ZHANG; MITTAL; BARBUT, 1995) mesmo durante a aplicação de forças externas (HUFF-LONERGAN, 2002).

Já para análise de CRA da carne, podem-se utilizar métodos baseados na centrifugação, na absorção livre ou por compressão em papel-filtro, métodos capilares, por perdas por gotejamento e perda por cocção (ORDÓÑEZ et al., 2005; RAMOS; GOMIDES, 2012). Em geral, a determinação da CRA é feita de forma indireta, medindo a água eliminada ao submeter a carne ou o produto cárneo a determinada força externa. A quantidade de água livre ou ligada é expressa com referência à quantidade de carne muscular ou proteína muscular (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Do ponto de vista industrial, baixa CRA, significa perdas econômicas provenientes de gotejamento excessivo durante o armazenamento, transporte, comercialização, e um baixo rendimento nos produtos (RAMOS; GOMIDES, 2012). Esta baixa CRA em aves e suínos pode ser proveniente de uma desnaturação acentuada de proteínas miofibrilares, denominada como PSE (RAMOS; GOMIDES, 2012).

3.4 ANÁLISE DE IMAGENS

Ao longo dos anos, vários métodos instrumentais e químicos foram desenvolvidos para a determinação da qualidade da carne e seus parâmetros anteriormente relatados. Entretanto, a operacionalidades destes é dificultada, já que são técnicas não destrutivas que requerem amostras consideravelmente grandes, demandam muito tempo na execução (LIU et al., 2004) e grandes quantidades de reagentes químicos que poderiam ocasionar impactos no meio ambiente. Além disso, os métodos tradicionais para monitoramento da qualidade dos alimentos são métodos em sua maioria destrutivos e demorados, e requerem uma preparação específica da amostra (ELMASRY; NAKAUCHI, 2016).

Um dos grandes problemas para desenvolver um sistema de visão computacional (CVS) é que o mesmo tenha a capacidade de substituir os avaliadores treinados para classificar e identificar os problemas nas indústrias alimentícias. O sistema precisa identificar todas as possibilidades para o problema. Como no caso relatado por Jackman et al. (2009), o sistema precisou reconhecer as diferentes características da carne de *Longissimus dorsi*, com diferentes imagens de marmoreio e fundos (locais da aquisição), para que o sistema funcionasse em qualquer ambiente.

O sistema de processamento de imagens é constituído por diversas etapas, como a formação e aquisição de imagem, digitalização, pré-processamento, segmentação, pós-processamento, extração de atributos, classificação e reconhecimento (CORDEIRO, 2007).

A etapa de aquisição é composta por quatro componentes básicos: iluminação, câmera, hardware e software (FERNÁNDEZ; CASTILLERO; AGUILERA, 2005). Ela tem como objetivo converter uma imagem em uma representação numérica adequada para o processamento digital. Esta fase compreende dois elementos principais, o primeiro é um dispositivo físico sensível a uma faixa de energia no espectro eletromagnético (Como raio ultravioleta, raios x, espectro visível ou raios infravermelhos); e o segundo é o digitalizador que converte o sinal elétrico analógico em informação digital (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

Dentre os aspectos envolvidos nesta etapa, pode-se citar a escolha do tipo de sensor, conjunto de lentes, e condições de iluminação a serem utilizados, os requisitos de velocidade de aquisição, a resolução, entre outros aspectos que

auxiliam na produção de uma imagem digitalizada (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

A próxima etapa de pré-processamento consiste em “consertar” imperfeições da imagem resultante da fase anterior, aprimorando a mesma. As imperfeições podem ser: caracteres interrompidos ou indevidamente conectados, presença de pixels ruidosos e contraste e/ou brilho inadequado (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

O armazenamento de imagens digitais é caracterizado por conter quantidades gigantescas de bytes contendo imagens. Ele também pode ser dividido, porém em três categorias: armazenamento de curta duração de uma imagem, armazenamento de massa para operações de recuperação de imagens relativamente rápidas, e arquivamento de imagens para recuperação futura (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

O processamento de imagens digitais envolve procedimentos normalmente expressos sob forma algorítmica. Assim, com exceção de aquisição e exibição, a maioria das funções de processamento de imagens pode ser implementada via software (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

A segmentação de uma imagem consiste na identificação e delimitação da região de interesse, e é considerada uma das fases mais difíceis no processamento de imagens (GUNASEKARAN, 1996; MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999). E existem vários métodos computacionais que realizam esta segmentação: os chamados algoritmos de segmentação, que podem ser baseados em crescimento de regiões, agrupamento de pixels (*clustering*), limiarização (*thresholding*), e muitos outros (WANG; WANG; BU, 2011).

A etapa posterior a segmentação, denomina-se “extração de características”. E tem objetivo extrair características das imagens resultantes da segmentação através de descritores que permitam caracterizar com precisão cada dígito e que apresentem bom poder de discriminação entre dígitos parecidos (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999). Essas características são informações quantitativas que são úteis para realizar a interpretação e classificação automática (CRÓSTA, 1992).

Por fim, a última etapa do sistema é o reconhecimento e interpretação do processo. O reconhecimento é basicamente a atribuição de um rótulo a um objeto baseado em suas características, traduzidas por seus descritores. Já a

interpretação, atribui significado a um conjunto de objetos reconhecidos (MARQUES FILHO & VIEIRA NETO, 1999).

Vários trabalhos (AGUILERA; BRIONES, 2005; KILIÇ et al., 2007; PEDRESCHI et al., 2006; WU; SUN, 2013; RAFIQ et al., 2013; MOGOL; GÖKMEN, 2014; SHAHRAKI et al., 2014) têm sido desenvolvidos em alimentos, utilizando estas novas metodologias que tem como objetivo em sua maioria, automatizar processos de classificação ou controle de qualidade substituindo profissionais treinados (com maiores probabilidades de erros) para sistema padronizados e que possam ser utilizados em diferentes ambientes.

Trabalhos na área de carnes também tem disso desenvolvidos, como: o desenvolvimento de um método de segmentação automática para produzir imagens precisas do marmoreio de músculos *Longissimus dorsi* (JACKMAN; SUN; ALLEN, 2009); avaliação da umidade em camarões desidratados (MOHEBBI et al., 2009); comparação de dois métodos de avaliação de cor usando o CVS para avaliação de fatias de presunto (VALOUS et al., 2009); aplicação do CVS para estimar o teor de lipídeo em carne de aves (CHMIEL; SLOWIŃSKI; DASIEWICZ, 2011), classificação de carnes bovinas em Normal ou DFD (CHMIEL et al., 2012); avaliação da cor de carne utilizando um colorímetro, avaliadores sensoriais e um CVS (GIROLAMI et al., 2013); avaliação da aparência de salsichas desidratadas (GIROLAMI et al., 2014), utilização para verificação da eficácia em detectar defeitos em *m. longissimus lumborum*, como o PSE (CHMIEL; SLOWIŃSKI, 2016).

Todos estes trabalhos utilizaram a análise de imagem, pois é um método não invasivo, com maior velocidade de resposta, reprodutibilidade, e maior facilidade de implementação desta tecnologia em um ambiente industrial (HAUGHEY et al., 2013).

3.5. WHITE STRIPING (WS)

Conforme relatado anteriormente, houve um aumento das preocupações relacionadas com a qualidade da carne. Os geneticistas buscaram obter um frango com alto peso de carcaça, no qual poderia ser retirada uma grande quantidade de músculo, principalmente do peito, já que o mesmo é considerado como uma carne nobre, resultando em um aumento nos lucros tanto para os criadores como para os processadores (OBA et al., 2006).

As aves destinadas à produção de carne, conhecidas como frangos de corte, foram selecionadas para atender as necessidades de um melhor desempenho, peso vivo, conversão alimentar e peso do peito (GAYA; MOURÃO; FERRAZ, 2006). Em menos de 30 anos, o tempo de produção para o desenvolvimento de um frango de 1,3 kg foi reduzido para cinco semanas. Com isto, diminuíram-se os custos de produção, em troca de maior desempenho (DRANSFIELD; SOSNICKI, 1999).

Entretanto é válido lembrar que apesar da genética proporcionar um potencial necessário ao crescimento e desenvolvimento do animal, outros fatores como: o meio ambiente, a dieta e o sistema de criação podem favorecer ou restringir esse potencial (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Apesar dos benefícios que esta seleção proporcionou a avicultura, alguns problemas relacionados com a qualidade da carne de aves começaram a aparecer (PETRACCI; CAVANI, 2012).

Dentre as alterações musculares presentes na carne de frango, pode-se relatar o *Wooden breast*, fenômeno que altera o músculo *Pectoralis major* com presença de áreas pálidas e dureza acompanhada de estrias brancas (características que podem ocorrer separadamente ou em conjunto) (SIHVO et al., 2014). De Brot et al. (2016), verificaram que as lesões (degeneração, necrose muscular polifásica multifocal), além de presença de fibrose intersticial e/ ou presença de tecido adiposo do *Wooden breast* apresentam semelhanças com um outro fenômeno, o WS.

O estudo realizado por Mutryn et al. (2015), esclareceu alguns pontos ao utilizar o seqüenciamento de RNA para tentar verificar os mecanismos envolvidos na etiologia e patogênese dos peitos de frango, mais especificamente para o fenômeno *Wooden Breast*, que assim como o WS também possui etiologia desconhecida, e apresentam as mesmas explicações de altas taxas de crescimento para o surgimento do fenômeno. De acordo com esses autores, o estudo sugeriu que fatores como: estresse oxidativo, hipóxia e níveis mais altos de cálcio e fibra muscular associado ao rápido crescimento dos frangos poderiam desempenhar um papel significativo na patogênese.

Outro fenômeno com etiologia não definida, mas que também tem ocasionado perdas econômicas para o setor avícola, é o WS. Esta miopatia se caracteriza pelo aparecimento de vários graus de estrias brancas nos cortes da coxa e peito, que seguem a direção da fibra muscular (KUTTAPPAN et al., 2009; KUTTAPPAN et al., 2013a).

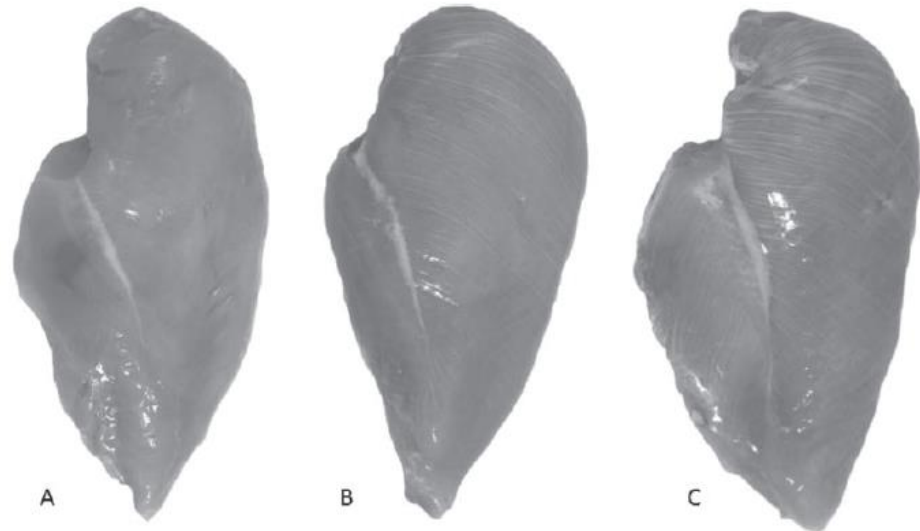
A etiologia do WS ainda é desconhecida, e existem várias contradições sobre a qualidade destas carnes. Entretanto, há um consenso de que pode estar associado a aves mais pesadas (KUTTAPPAN et al., 2009; KUTTAPPAN et al., 2013bc; PETRACCI et al., 2013) resultantes da intensa seleção genética das linhagens com menor tempo de criação, rápido ganho de peso, e menores custos de produção (PEREIRA et al., 2005; KUTTAPPAN et al., 2012b; PETRACCI et al., 2014). E de que ele prejudica a aparência da carne de frango, e conseqüente a sua qualidade devido à presença das estrias brancas (KUTTAPPAN et al., 2012a; PETRACCI et al., 2013).

Recentemente, foi estimado que 40% dos filés de frango de aves criadas em condições comerciais na Itália, consideradas de pesos médios (2,2-3,0 Kg) e pesadas (> 3,0 Kg) foram classificadas em diferentes graus de severidade do WS. A incidência do WS foi verificada na maior idade e peso de abate (LORENZI et al., 2014).

3.5.1 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO DO WS

Kuttappan et al. (2009; 2012a), foram os primeiros pesquisadores que desenvolveram uma classificação para os diferentes graus de severidade do WS. Os pesquisadores classificaram os filés de peito de frango em três categorias, de acordo com a gravidade visual do WS (Figura 3): Normal, Moderado e Severo. Os filés classificados como Normal foram as amostras que não apresentaram linhas ou estrias brancas. Já os filés classificados como, Moderado, exibiam algumas estrias (< 1 mm de espessura) paralelas as fibras musculares, mas visíveis na superfície dos filés de frango. E os filés classificados como Severo, exibiam as estrias brancas paralelas as fibras musculares (> 1 mm de espessura) e eram bem visíveis na superfície dos filés.

Figura 3 - Classificação dos filés de peito de frango, a partir do grau de gravidade do WS: A) Normal; B) Moderado; C) Severo (KUTTAPPAN et al. 2012a).



Já autores franceses, Alnahhas et al. (2016), utilizaram essa escala proposta por Kuttappan et al. (2012a) como base e realizaram algumas modificações: as amostras Normais, seriam os filés sem estrias na superfície; as Moderadas seriam correspondentes a pontuação (“score”) 1 com estrias de espessuras menores que 1 mm; e as Severas (ou gravemente afetadas), poderiam receber a pontuação de 1,5 a 2 com estrias de espessuras maiores ou iguais a 1 mm.

Os autores americanos Bailey et al. (2015), classificaram o mesmo fenômeno em “scores” utilizando uma escala de 4 pontos de acordo com a severidade: 0 (zero) para filés sem estrias; 1 (leve) para filés em que se nota a presença de estrias, mas não são tão evidentes; 2 (moderada) para filés em que a presença de estrias é evidente; 3 (grave) para filés com estrias grossas e que recobrem a superfície dos filés de frango.

Kuttappan et al. (2012a), também tentaram classificar os filés de frango com auxílio da análise de imagem, que pode ser uma ferramenta útil, já que o WS resulta em diferenças na coloração (devido a presença de áreas brancas na forma de estrias) na superfície. Entretanto, a técnica desenvolvida apresentou algumas limitações que necessitavam ser corrigidas para que ela possa ser utilizada como ferramenta para auxiliar na classificação na linha de processamento automatizado para separar os filés de frangos com diferentes graus de WS.

3.5.2 CARACTERIZAÇÃO

Após definir a escala de classificação dos filés de frango, Kuttappan et al. (2012a), realizaram um teste sensorial de aceitação com os filés com o WS com os três graus de gravidade para verificar se a presença das estrias prejudicava a decisão de compra dos consumidores americanos no momento da compra. E segundo os autores, a aceitação dos consumidores diminuiu com o aumento do grau de severidade dos filés de frango classificados com o WS. Mais de 50% dos consumidores definitivamente/provavelmente não comprariam os filés com qualquer grau da miopatia.

Uma das principais razões para este resultado foi de que os consumidores associaram os filés com o maior grau do WS (Severo) com produtos com elevado teor de gordura. Assim, esses filés de frango com o maior grau de estrias poderiam causar prejuízos às indústrias, pois seriam retirados da venda em sua forma fresca (PETRACCI et al., 2013), destinando-os a produtos, como: salsichas e *nuggets* (PETRACCI et al., 2014).

Sabendo que o WS prejudica a aparência do produto, vários trabalhos tiveram como objetivo caracterizar o WS em diferentes países. Na Itália, Petracci et al. (2013) verificaram que os filés de peito de frango com os diferentes graus de WS apresentaram baixa capacidade de retenção de água com alta perda por cozimento. Os autores atribuíram estes resultados com o fato de que o fenômeno poderia estar associado com uma degeneração muscular muito semelhante a distrofias musculares. Esta degeneração, de acordo com os mesmos autores, poderia resultar em uma forte diminuição na concentração das proteínas contráteis musculares (como por exemplo: miosina e actina), resultando em uma carne de frango com as características relatadas.

Já os pesquisadores americanos (KUTTAPPAN et al., 2013a), verificaram que a ocorrência dos graus Moderados e Severos do WS é caracterizado histopatologicamente por lesões miopáticas crônicas, como perda de estrias transversais, variabilidade no tamanho das fibras, a degeneração flocular/ vacuolar e lise das fibras, a mineralização leve, regeneração ocasional, infiltração de células mononucleares, lipidose, e inflamação intersticial e fibrose.

Os autores também observaram um aumento de lesões polifásicas, que foi associado à composição centesimal da carne, principalmente ao fato de que se

diminuiu o teor de proteínas e aumentou-se a percentagem de lipídios. A ocorrência de alterações no tecido muscular foi mais freqüente na região cranial ventral do filé em comparação com outras regiões (KUTTAPPAN et al., 2013a).

Resultados semelhantes para proteínas e lipídios também foram verificados por Petracci et al. (2014), e concluíram que o teor de proteína também diminuiu com o aumento do grau de severidade do WS, enquanto o teor de lipídios aumentou. Já para a umidade das amostras, o parâmetro não apresentou diferenças para os diferentes graus do fenômeno. Os autores atribuíram estes resultados, devido ao processo de degeneração das fibras do músculo.

De acordo com os autores, a perda de proteína seria um efeito indireto do aumento de acúmulo de lipídios intramusculares, sendo que esta diminuição foi comprovada nos resultados de SDS-PAGE, no qual apresentaram redução da quantidade de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares. Enquanto a lipídose e a fibrose, verificada por Kuttappan et al. (2013a), poderiam explicar o aumento de lipídio intramuscular e colágeno, respectivamente (PETRACCI et al., 2014).

Entretanto, esta hipótese foi esclarecida com o estudo realizado por Kuttappan et al. (2013c), que verificaram que o aumento de lipídios intramusculares depositados nos filés classificados como Severo não é resultado da lipogênese.

Os autores sugeriram uma possível hiperplasia dos adipócitos, proveniente de uma lesão muscular permanente que resultou no problema de armazenamento e circulação dos triglicerídeos nesses filés.

Petracci et al. (2014), também verificaram que, os índices nutricionais dos filés com WS classificados com o grau Severo obtiveram maior teor total de energia em comparação com os filés normais, enquanto que o grau Moderado não apresentou diferenças significativas. A proporção entre colágeno e proteína total foi significativamente aumentada nos filés de grau Moderado e grave em comparação com o grau normal, significando de acordo com os autores, que a qualidade nutricional das proteínas dos filés com esse fenômeno foi reduzida, devido à baixa digestibilidade do colágeno e a deficiência de alguns aminoácidos essenciais no tecido conjuntivo.

Em contraposição, os pesquisadores brasileiros (FERREIRA et al., 2014) não evidenciaram aumento do tecido conjuntivo nos filés de frango nos diferentes graus de WS sugerindo que esta condição seria de caráter agudo.

Kuttappan et al. (2013b), constataram que os filés de frango com o fenômeno WS poderia estar correlacionado com as linhagens dos frangos, devido a diferença no padrão de crescimento. O mesmo estudo também verificou a influência de outros parâmetros no surgimento do WS, como a cor, que no grau “Severo”, poderia ser acompanhado pelo aumento da cor amarela (aumento do parâmetro b^*) nos filés. Em oposição, os parâmetros: temperatura e dieta dos animais, não apresentaram variações nos diferentes graus do fenômeno. Os filés com os três graus de WS não diferiram com relação aos parâmetros de qualidade: L^* (luminosidade) e a^* (verde-vermelho), pH e perda por cozimento.

Em contraste, Petracci et al. (2013), verificaram um pequeno aumento nos parâmetros a^* e b^* , nos filés com o grau Severo, e apresentaram pH mais elevado em comparação com os Moderados e Normais.

Além da caracterização, o experimento realizado por Kuttappan et al. (2012b), teve como objetivo comparar o efeito de diferentes níveis de vitamina E na dieta sobre a ocorrência dos três graus do WS em filés de peito de frango, de forma a prevenir esta miopatia. Os autores verificaram que a adição de vitamina E utilizada no estudo não resultou em qualquer associação significativa na ocorrência do WS, ou seja, o aumento do teor de vitamina E na dieta não poderia evitar a ocorrência do WS nos filés de peito de frango (KUTTAPPAN et al., 2012b).

Apesar de todos estes experimentos, atualmente são poucos os estudos relacionados a este fenômeno na carne de frango, quando comparados com outras miopatias. A adoção de medidas preventivas para o controle do WS tem dificultado a tomada de decisões seguras para o consumidor. Devido a estas incertezas com relação aos filés de frango acometidas com o WS torna-se necessário a busca de mais informações sobre o tema para melhores esclarecimentos buscando a garantia da qualidade dos produtos e permanência no mercado.

REFERÊNCIAS

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. 2017. Disponível em: <http://abpabr.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2017.
- AGUILERA, J. M.; BRIONES, V. Computer vision and food quality. *Food Australia*, v. 57(3), p. 79-87, 2005.
- ALNAHHAS, N.; BERRI, C.; CHABAULT, M.; CHARTRIN, P.; BOULAY, M.; BOURIN, M. C.; LE BIHAN-DUVAL, E. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. **BMC Genetics**, v. 17, n. 01, p.1-9, 2016.
- 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**, 94(12), p. 2870-2879, 2015.
- CASTILLO, C. J. C. Atributos de qualidade em carcaças e cortes de frangos. In: CASTILLO, C. J. C. **Qualidade da Carne**. São Paulo: Varela, 2006. p.133- 152.
- CHMIEL, M., SLOWIŃSKI, M., DASIEWICZ, K. Application of computer vision systems for estimation of fat content in poultry meat. **Food Control**, v. 22 (8), p. 1424-1427, 2011.
- CHMIEL, M.; SLOWIŃSKI, M.; DASIEWICZ, K.; FLOROWSKI, T. Application of a computer vision system to classify beef as normal or dark, firm, and dry. **Journal of Animal Science**, v. 90 (11), p. 4126-4130, 2012.
- CHMIEL, M.; SLOWIŃSKI, M. The use of computer vision system to detect pork defects, **LWT – Food Science and Technology**, v. 73, p.473-480, 2016.
- CORDEIRO, M. B. **Análise de imagens na avaliação do comportamento, do bem-estar e do desempenho de pintos de corte submetidos a diferentes sistemas de aquecimento**. 2007. 111 fls. Tese (Pós-Graduação em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.
- CORÓ, F. A. et al. Age related changes in poultry breast meat collagen pyridinoline and texture. **Journal of Food Biochemistry**, v. 26, p. 533-541, 2003.
- CLARCK, K. A. et al. Striated Muscle Cytoarchitecture: An Intricate Web of Form and Function. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 18, p.637-706, 2002.
- CRÓSTA, A.P. **Processamento digital de imagens de sensoriamento remoto**. Ed. revisada. Campinas: IG/UNICAMP. 1992. 170p.

DE BROT, S.; PEREZ, S.; SHIVAPRASAD, H. L.; BAIKER, K.; POLLEDO, L.; CLARK, M.; GRAU-ROMA, L. Wooden breast lesions in broiler chickens in the UK. **Veterinary Record**, v. 178 (6), p. 141/1-141/2, 2016.

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

ELMASRY, G. M.; NAKAUCHI, S. Image analysis operations applied to hyperspectral images for non-invasive sensing of food quality – A comprehensive review. **Byosystems Engineering**, v. 142, p. 53-82, 2016.

FAUSTMAN, C. Postmortem Changes in Muscle Foods. In: KINSMAN, D. M.; KOTULA A. W, BREIDENSTEIN, B. C. **Muscle Foods: Meat, poultry and seafood technology**. New York, NY: Chapman & Hall, 1994, p. 63-70.

FERNÁNDEZ, L.; CASTILLERO, C.; AGUILERA, J.M. An application of image analysis to dehydration of apple discs. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 185-193, 2005.

FERREIRA, T. Z.; CASAGRANDE, R. A.; VIEIRA, S. L.; DRIEMEIER, D.; KINDLEIN, L. An investigation of a reported case of White striping in broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, p. 748-753, 2014.

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

FRATERMAN, S.; ZEIGER, U.; KHURANA, T. S.; WILM, M.; RUBINSTEIN, N. A. Quantitative proteomics profiling of sarcomere associates proteins in limb and extraocular muscle allotypes. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 4, p.728-737, 2007

GAYA, L. G.; MOURÃO, G. B.; FERRAZ, J. B. S. Aspectos genéticos-quantitativos de características de desempenho, carcaça e composição corporal em frangos. **Ciência Rural**, v. 36, n.2, p. 709-716, 2006.

GIROLAMI, A.; BRAGHIERI, A. Measurement fo meat color using a computer vision system. **Meat Science**, v. 93(1), p. 111-118, 2013.

GIROLAMI, A.; NAPOLITANO, F.; FARAONE, D.; BELLO, G. D.; BRAGHIERI, A. Image analysis with the computer vision system and the consumer test in evaluating the appearance of Lucanian dry sausage, **Meat Science**, v. 96(1), p. 610-616, 2014.

GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e Qualidade da Carne: Fundamentos**. Viçosa: UFV, 2013. 197 p.

GUNASEKARAN, S. Computer vision technology for food quality assurance. **Trends in Food Science & technology**, v. 7, p. 245-256, 1996.

HAUGHEY, S. A.; GRAHAM, S. F.; CANCOUËT, E.; ELLIOT, C. T. The application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to detect melamine adulteration of soya bean meal. **Food Chemistry**, v. 136, p. 1557-1561, 2013.

HUFF-LONERGAN, E. Water-Holding Capacity of Fresh Meat. National Pork Producers Council, Des Moines, IA.p.1-8, 2002.

JACKMAN, P.; SUN, D.; ALLEN, P. Automatic segmentation of beef *longissimus dorsi* muscle and marbling by an adaptable algorithm. **Meat Science**, v.83, 2009.
JIANG, S.T. Contribution of muscle proteinases to meat tenderization. **Proceedings of the National Science Council**, ROC.v.22, p.97-107, 1998.

KILIÇ, K.; BOYACI, I. H.; KÖKSEL, H.; KÜSMANOĞLU, I. A classification system for beans using computer vision system and artificial neural networks. **Journal of Food Engineering**, v. 78(3), p. 897-904, 2007.

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.

KOOHMARAIE, M.; KENT, M. P.; SHACKELFORD, S. D.; VEISETH, E.; WHEELER, T. L. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship?. **Meat Science**, v. 62, p. 345-352, 2002.

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** (Abstract), v. 88 (E-Suppl. 1), p. 136-137, 2009.

KUTTAPPAN, V. A.; LEE, Y. S.; ERF, G. F.; MEULLENET, J. F.; MCKEE, S. R.; OWENS, C. M. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. **Poultry Science**, v. 91, p. 1240-1247, 2012a.

KUTTAPPAN, V. A.; GOODGAME, S. D.; BRADLEY, C. D.; MAUROMOUSTAKOS, A.; HARGIS, B. M.; WALDROUP, P. W.; OWENS, C. M. Effect of different levels of dietary vitamin E (DL - α -tocopherol acetate) on the occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets. **Poultry Science**, v. 91, p. 3230-3235, 2012b.

KUTTAPPAN, V. A. SHIVAPRASAD, H. L.; SHAW, D. P.; VALENTINE, B. A.; HARGIS, B. M.; CLARK, F. D.; MCKEE, S. R.; OWENS, C. M. Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, v. 92, p. 331-338, 2013a.

KUTTAPPAN, V. A.; BREWER, V. B.; MAUROMOUSTAKOS, A.; MCKEE, S. R.; EMMERT, J. L.; MEULLENET, J. F.; OWENS, C. M. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, v. 92, p. 811-819, 2013b.

KUTTAPPAN, V. A.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; HARGIS, B. M.; APPLE, J. K.; COON, C.; OWENS, C. M. Comparison of hematologic and serologic profiles of

broiler birds with normal and severe degrees of white striping in breast fillets. **Poultry Science**, v. 92, p. 339-345, 2013c.

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

LIU, Y.; LYON, B. G.; WINDHAM, W. R.; LYON, C. E.; SAVAGE, E. M. Prediction of physical, color, and sensory characteristics of broiler breasts by visible/near infrared reflectance spectroscopy. **Poultry Science**, v. 83, p. 1467-1474, 2004.

LONERGAN, E. H.; ZHANG, W.; LONERGAN, S.M. Biochemistry of postmortem muscle: Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, p.184-195, 2010.

LORENZI, M.; MUDALAL, S.; CAVANI, C.; PETRACCI, M. Incidence of White Striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy. **The Journal of Applied Poultry Research**,v. 23 (4), p. 754-758, 2014.

MALTIN, C.; BALCERZAK, D.; TILLEY, R.; DELDAY, M. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 337-347, 2003.

MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999. 307 p.

MCCORMICK, R. J. Structure and Properties of Tissues. In: KINSMAN, D.M.; KOTULA, A.W.; BREIDENSTEIN, B.C. **Muscle foods: meat, poultry and seafood technology**. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 25-78.

MOHEBBI, M.; AKBARZADEH, M-R.; SHAHIDI, F.; MOUSSAVI, M.; GHODDUSI, H-B. Computer vision systems (CVS) for moisture content estimation in dehydrated shrimp. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 69(2), p. 128-134, 2009.

MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Computer vision-based analysis of foods: a non destructive colour measurement tool to monitor quality and safety, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94(7), p. 1259-1263, 2014.

MUTRYN, M. F.; BRANNICK, E. M.; FU, W.; LEE, W. R.; ABASHT, B. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing. **BMC Genomics**, v. 21 (16), p. 1-19, 2015;

OBA, A.; SOARES, A. L.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. A evolução da seleção genética do frango e anomalias que afetam a produção das carnes. **Ave World**, n. 22, p. 48-51, 2006.

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

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

- OUALI, A.; HERRERA-MENDEZ, C. H.; COULIS, G.; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; AUBRY, L.; SENTANDREU, M. A. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, v.74, p.44-58, 2006.
- PEDRESCHI, F.; LEÓN, J.; MERY, D.; MOYANO, P. Development of a computer vision system to measure the color of potato chips. **Food Research International**, v.39(10), p. 1092-1098, 2006.
- PEREIRA, R. A.; RODRIGUES, L. B.; ALLGAYER, M. C.; DICKEL, E. L.; SANTOS, L. R.; GABRIELLI, E.; CARÍSSIMI, A. S. Miopatia peitoral profunda em frangos de corte. **Veterinária em Foco**, v. 3, p.11-16, 2005.
- 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, 2013.
- 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.
- RAFIQ, A.; MAKROO, H. A.; SACHDEVA, P.; SHARMA, S. Application of computer vision system in food processing – a review. **Journal of Engineering Research and Applications**, v. 3(6), p. 1197-1205, 2013.
- RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologia**. Viçosa: UFV, 2012. 599 p.
- SAMS, A. R. Meat quality during processing. **Poultry Science**, v.78, p. 798-803, 1999.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos protéicos: propriedades – degradações -modificações**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. p.172-184.
- SHAHRAKI, M. H.; MASHKOUR, M.; GARMAKHANY, A. D. Development and application of computer vision system for the measurement of the colour of Iranian sweet bread. **Quality Assurance and Safety of Crops and Foods**, v. 6(1), p. 33-40, 2014.
- SHIMOKOMAKI, M. et al. Calpaínas e Calpastatinas. In: **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. Editora Varela, São Paulo, 2006.
- SIHVO, H.-K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the Pectoralis major muscle of broilers. **Veterinary Pathology**, v. 51(3), p. 619-623, 2014.

SIMÕES, G. S.; ROSSA, A.; OBA, A.; MATSUO, T.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E. I. Influência do Transporte em Frangos PSE e a-DFD. **Revista Nacional da Carne**, v. 23, p. 20-30, 2009.

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. Structure and Development of meat animals and Poultry. CRC Press, 1994. p. 495-553.

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

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Principles of Anatomy and Physiology**. 12. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009. p. 306.

VALOUS, N.A.; MENDONZA, F.; SUN, D-W.; ALLEN, P. Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. **Meat Science**, v. 81(1), p. 132-141, 2009.

WANG, X.-Y.; WANG, T.; BU, J. Color image segmentation using pixel wise support vector machine classification. **Pattern Recognition**, v. 44(4), p. 777-787, 2011.

WU, D.; SUN, D.-W. Colour measurements by computer vision for food quality control – a review, **Trends in Food Science and Technology**, v. 29 (1), p. 5-20, 2013.

ZHANG, M.; MITTAL, G.S.; BARBUT, S. Effects of test conditions on the water holding capacity of meat by a centrifugal method. **Food Science and Technology**, v.28, p.50-55, 1995.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O item 4 foi contemplado com o desenvolvimento dos três artigos científicos abaixo relacionados e serão apresentados no item **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**.

ARTIGO CIENTÍFICO 1: EVALUATION OF PHYSICAL CHEMICAL, MICROSCOPICALLY PARAMETERS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BROILER BREAST WITH WHITE STRIPING

ARTIGO CIENTÍFICO 2: POULTRY MEAT WHITE STRIPING DEGREE ASSESSMENT USING COMPUTER VISION SYSTEM AND CONSUMER ACCEPTANCE TEST

ARTIGO CIENTÍFICO 1

EVALUATION OF PHYSICAL CHEMICAL, MICROSCOPICALLY PARAMETERS
AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BROILER BREAST WITH WHITE STRIPINGTalita Kato^a, Massami Shimokomaki^b, Ana Paula Bracarense^c and Adriana L. Soares

a,*

^aDepartment of Food Science and Technology, State University of Londrina (UEL), Brazil^bDepartment of Animal Science, State University of Londrina (UEL), Brazil^cDepartment of Preventive Veterinary Medicine, State University of Londrina (UEL), Brazil

E-mail addresses talita_kato@hotmail.com (T. Kato), mshimo@uel.br (M. Shimokomaki)

*Corresponding author: e-mail: adri.soares@uel.br – +55 (43)3371-5962 - Department of Food Science and Technology, State University of Londrina, Brazil -

Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380 - Campus Universitário - CCA - Cx. Postal 10011 - CEP 86057-970 - Londrina – PR

ABSTRACT

A new condition affecting the *Pectoralis major* m. in broiler known as White Striping (WS) has been globally reported including Brazil. WS is characterized by the appearance of white striations on the surface parallel to the muscle fibers direction. The WS has been classified in two degrees of quality Moderate (MOD) and Severe (SEV) according to visual evaluation. Normal (NORM) for samples without white striations. Thus, this study aimed to determine the incidence and to characterize WS in breast meat samples in a commercial slaughter processing line, and verified some quality parameters such as: pH values, color and size dimensions, and histological microscopic evaluation, chemical composition, total and soluble collagen, water holding capacity, cooking loss, shear force, emulsifying capacity and fatty acid

profile. The incidence (n = 660) was 51.67% and 31.36% for MOD and SEV samples, respectively and 16.97% for Normal (NORM) samples. There were no differences in pH and a * and b * parameters among three sample groups. In relation to the L * parameter, highest values were observed in both MOD and SEV groups. SEV samples presented higher values of cranial thickness values, diameter fibers and presented fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate. SEV samples presented, 27% more lipid fraction, 29% more in total collagen content, 26% more cooking loss and 27% higher shear force (cooked meat) in compared to the NORM samples. There were no differences among three meat groups in relation to WHC, pH and emulsifying capacity analysis. Finally, there were no significant differences between SFA, MUFA and PUFA fatty acids. The 17:1n9 and 20:4n-6 fatty acids showed significantly higher proportions for SEV samples when compared to the others. For the 18:1n7 fatty acid, the opposite was verified, presenting the lowest proportions for SEV samples. 20:3n6, 22:5n6 fatty acids presented significantly higher proportions in NORM samples. The presence of WS phenomenon not only affects the appearance of the chicken breasts, but also changes the structure of the chicken meat and altered the lipid and collagen content, that consequently modifies the juiciness of the samples when cooked.

Key words: Color, Collagen, Histopathology, Myopathy, pH, White Striation

INTRODUCTION

The intense genetic selection of the strains due to the economic necessity to slaughter poultry in less time with fast weight gain has caused animal physiological

behavior with damages to muscle tissue (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001). Some abnormalities impair the appearance of the final product, like PSE (Pale, Soft, Exudative) condition, Deep Pectoral Myopathy, Wooden Breast and White striping. They represent problems for the industry and compromise the quality of the meat and the guarantee of market maintenance.

White Striping (WS) is an abnormality characterized by the appearance of white striations on the surface of the chicken breasts and the thighs following the muscle fibers direction (KUTTAPPAN et al., 2009; 2012a). Kuttappan et al. (2009; 2012a) developed a visual classification, according to the degree of WS: NORM (Normal), MOD (Moderate) and SEV (Severe).

Several studies have been conducted to characterize this phenomenon, since it damages the appearance of the final product. Kuttappan et al. (2012a) verified that over 50% of the consumers rejected the consumption of WS samples. The experiment revealed the major reasons for these fillets was the appearance of the samples that was associated with more fatty or marbled.

For this reason, WS SEV samples may be downgraded in commercial plants and destined for manufacture of processed products (PETRACCI et al., 2014), but it has been verified that WS was not limited to impair only the appearance, but also physical and chemical composition.

Kuttappan et al. (2013a) verified that WS samples is histologically characterized by chronic myopathic lesions, like: variability in fiber size, floccular/vacuolar degeneration, lysis of fibers, mild mineralization, occasional regeneration, mononuclear cell infiltration, lipidosis, and interstitial inflammation and fibrosis. However, Ferreira et al. (2014) not verified proliferation of connective tissue at 42 d of age in WS samples.

Other meat quality parameters were also observed in WS samples. Negative impact on water holding capacity and binding capacity of WS breast meat (KUTTAPPAN et al., 2013a; PETRACCI et al., 2013) and consequently in meat texture (PETRACCI et al., 2013), different proximate chemical composition (more fat and less protein) (KUTTAPPAN et al., 2012b; MUDALAL et al., 2014; PETRACCI et al., 2014), with differences in fatty acid composition (KUTTAPPAN et al., 2012b), low content of myofibrillar proteins and high content of stromal proteins (MUDALAL et al., 2014).

The WS chicken breasts are removed from processing lines by many slaughterhouses to avoid rejection of consumers at the time of purchase. There is a need to verify if this myopathy has differences in its structure and composition that should interfere in the preparation of meat products.

Thus, this study aimed to verify the incidence of White Striping myopathy in a commercial slaughterhouse in the south of Brazil and to verify if visual alteration of these fillets influence on characteristics such as the size of the chicken fillets, pH, color, and histologically, by means of optical microscopy. And characterize myopathy in their different degrees of severity in the *Pectoralis major* muscle in relation to physical and chemical parameters: chemical composition, total and soluble collagen, water holding capacity, cooking loss, shear force, pH, emulsifying capacity and fatty acid profile.

MATERIAL AND METHODS

Classification of samples

The experiment was conducted in plant located in the south of Brazil. The chickens of 47 days of ages, both genders were slaughtered following the standard industrial practice: hanging, electrical stunning, bleeding, scalding, defeathering, evisceration, cooling in chiller, deboning and refrigeration. The chicken breast meat fillet (n=660) were collected and classified according Kuttappan et al. (2009, 2012a) by visual evaluation: NORM (no white striations on the surface of chicken breast); MOD (when white striations, parallel to the muscle fibers, were apparent on the surface and < 1 mm thick); and SEV (when white striations >1 mm thick and covering a large part of the surface of chicken breast).

The chicken breasts were classified and stored at 4 °C for 24 hours for analysis inside the commercial plant: color (L^* , a^* , b^*) and the size dimensions: length, width and thickness. After collection and classification, 25 samples of each WS degree (n = 75) were transported to the laboratory and duly prepared for the analyzes of optical microscopy with two different stainings. Others 10 samples of each grade were transported to the laboratory and analyzed for water holding capacity (WHC), cooking loss (CL), shear force, chemical composition, total collagen content and soluble collagen content. And others 20 samples of each grade (n = 60) were and analyzed for pH, *emulsifying capacity and fatty acid profile*.

Size measurement of fillets

The dimensions (mm) of fillets of chicken breast were measured in duplicate: the length (L) (the longest point), the width (W) (at widest point), thickness of the cranial region (T1) and thickness of the caudal region (T2). The measurements were

made using a digital caliper Digimes 300 mm with 0.01 mm resolution (MEHAFFEY et al., 2006).

Color measurement

The color analyzes were performed 24 hours *post-mortem* in sextuplicate using the colorimeter Minolta® CR-400 with illuminant D65 and 10° angle of view, taking six different points of breast (3 points each side) by reading (ventral cranial side) to determine the color parameters (L^* , a^* , b^*) according to the CIELab system.

Optical microscopy

For the histological analysis of chicken breasts classified in NORM, MOD and SEV, they were cut and fixed in formalin solution for 24h. The samples were dehydrated in a series of ethanol with increasing concentrations, diaphanized in xylol, embedded in paraffin and cut into microtomes with a thickness of 5 μm .

The sections were submitted in two methodologies: Hematoxylin and Eosin (HE) staining and evaluated for the general morphology of the tissue and the degree of cell shrinkage, according to Dubowitz and Brooke (1973). And staining by Masson's Trichrome, to show the nuclei (black staining), cytoplasm / keratin / intercellular fibers (red staining), and collagen (blue staining). The program MOTIC Image Plus 2.0 ML® (MOTIC Image Plus Motic Instruments Richmond, Canada) was used to obtain the images and measure the cell diameters. In each image the diameter of 10 cells with 40x objective lens was randomly measured, totalizing 250 cells per group of chicken breasts.

Biochemical and Physicochemical parameters

Proximate chemical composition

The chemical composition was performed in triplicate as described in methods A.O.A.C (2012). The moisture was determined by drying at 105 °C in an oven to constant weight; ash by incineration in a muffle at 550 °C; lipids were extracted in a Soxhlet with petroleum ether after acid hydrolysis. The nitrogen content was determined by the Kjeldahl method using the conversion factor protein of 6.25.

Total collagen content

Total collagen content was extracted according to the method of Woessner (1961) in duplicate. The collagen content was calculated from hydroxyproline content using the coefficient 8.0 (Kolar, 1990).

Soluble collagen content

The soluble collagen was extracted in duplicate according to the modified method of Oliveira, Soares and Antunes (1998). Samples (2.5 g) were homogenized for 1 minute with 20 mL of deionized water and it was heated for 60 minutes at 80 °C. Then the samples were homogenized at 22,000 rpm Ultra Turrax and centrifuged for 15 minutes at 4000 rpm. The supernatant was filtered and 30 mL of 6 mol.L⁻¹ HCl

was added for hydrolysis as described previously. Finally, the soluble collagen was determined as described for total collagen content.

Water holding capacity measurement (WHC)

The determination of WHC was performed in duplicate 24h *post-mortem* (Hamm, 1960), which uses the measurement of loss of water released when pressure is applied (10 kg for 5 minutes) on muscle tissue (approximately 2 g). The WHC was determined by the exudate water weight through the following equation: $100 - [(initial\ weight - final\ weight / initial\ weight) \times 100]$.

Cooking Loss (CL)

The CL was determined in duplicate following the methodology described by Honikel (1998). Samples were packed in plastic bags and submitted to cooking in a water bath until internal temperature reached 75 °C. CL was expressed as the weight difference before and after cooking.

Shear force (SF)

The shear strength was measured in five replications in the same samples of CL analysis, following the instructions of Bratzler (1949). The samples (cooked) were cut into 1 x 1 x 2 cm (height, width, length) and subjected to shear force with the blade Warner Bratzler (WB) with speed 5 mm/s, coupled with texturometer TA-XT2i. The results were expressed in Newton corresponding to the maximum force required to cut the sample in the transverse direction to the fibers.

pH

The determination of pH was performed after 24h *post-mortem* in triplicate with the Testo potentiometer, equipped with the insertion electrode, as described by Boulianne & King (1995).

Emulsifying Capacity

An aliquot of 25 g of sample were homogenized in 100 mL of 1 mol.L⁻¹ NaCl solution for 2 minutes in a vortex homogenizer. 2.5 g of this initial solution was weighed into a beaker and 20 mL of distilled water and 10 mL of soybean oil were added. Then the solution was placed in the Britannia blender (Diamond Black), in low spin for 15s, and then the addition of soybean oil was started with a burette (10mL .min⁻¹) until the emulsion was broken. The break point of the emulsion was detected visually by the drastic reduction of viscosity. This analysis was performed in triplicate by analysis. The emulsifying capacity was expressed in mL of added oil (until emulsion breaking) per 100 mg of protein (SWIFT, 1961 modified).

Fatty Acids Profile

Lipid extraction followed the methodology of Bligh; Dyer (1969) with modifications. Hydrolysis and transesterification of fatty acids followed method ISO 5509: 1978. The fatty acid methyl esters were analyzed using Shimadzu Chromatograph (model 17A - Gas Chromatograph) with flame ionization detector, capillary column (100 m x 0.25 mm) with 0.25µm cyanopropyl polysiloxane CP SII

88. The ramp column temperature was programmed to: 65 °C for 15 minutes; 10 °C.min⁻¹ until 165 °C and held for 2 minutes; 4 °C.min⁻¹ until 185 °C and held for 8 minutes; 4 °C.min⁻¹ until 235 °C and held for 5 minutes. The detector and injector were maintained at 260°C, with 1/100 Split. The gas flow was 1,2 mL.min⁻¹ for the drag gas (H₂), 30 mL.min⁻¹ for the auxiliary gas (N₂), 30 and 300 mL.min⁻¹ for the flame gases, H₂ and synthetic air, respectively. Identification of fatty acids was based on methyl esters of fatty acids (Sigma). The area of the peaks was determined by integrator coupled to the gas chromatograph. The results were expressed as relative percentages of the identified fatty acids

Statistical analysis

The statistical analyses were performed in Statistica program version 7.0. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test at 5% probability to compare the results among three meat quality groups.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Occurrence of WS

Table 1 presented comparative values of WS (MOD and SEV) and NORM breast meat obtained in different countries in relation to the results described in this work. The incidence of WS breast meat was higher (51.67%) for MOD group and 31.36% for SEV group. The WS incidence reported here was the highest when compared to others authors (KUTTAPPAN et al., 2013a; PETRACCI et al., 2013;

FERREIRA et al., 2014; LORENZI et al., 2014; ALNAHHAS et al., 2016). The MOD incidence of this work was similar to these obtained in the USA by Kuttappan et al. (2013a). However, Ferreira et al. (2014) reported the lowest WS occurrence of 9.84% (MOD + SEV) despite being in the same country of this research.

Table 1 - Comparative values of WS (MOD and SEV) and NORM breast meat obtained in different countries

Reference	Country	Total number	NORM (%)	MOD (%)	SEV (%)
Kuttappan et al., (2013a)	United States	n=739	44.20	47.50	8.30
Petracci et al., (2013)	Italy	n=28000	88.00	8.90	3.10
Lorenzi et al. (2014).	Italy	n=35000	57.00	36.80	6.20
Ferreira et al., (2014)	Brazil	n=2512	90.16	7.38	2.46
Alnahhas et al. (2016)	France	n=1349	49.30	36.70	14.00
Present work	Brazil	n = 660	16.97	51.67	31.36

WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

2. Color and pH analysis

For pH and a* and b* values did not show any significant difference among the three meat groups, while the L* values were significantly higher for the groups

with striations (MOD and SEV) when compared without striations (NORM) (Table 2). Several researches related a relationship between breast meat color and pH (BARBUT et al., 1993; ALLEN et al., 1997; FLETCHER, 1999; SOARES et al., 2002).

According to Swatland (2008), decreased of pH results in an increase of birefringence, with less light being transmitted through the fibers and more light being dispersed. However, in this study this relationship did not appear with WS samples. Alnahhas et al. (2016) had similar results for L* parameter, with higher values on WS samples when compared with NORM breast fillets; and for a* and b* parameters with no significant differences.

However, previous studies reported an increased for b* and a* parameters in WS samples and higher pH values for the SEV group (PETRACCI et al., 2013). Kuttappan et al. (2013a), observed an increase in the values of the b* parameter for the SEV group and no difference in the L* and a* parameters and pH values.

Table 2 – Values of pH, color (L*, a*, b*) for chicken breasts classified in different WS degrees

	NORM (n=112)	MOD (n=341)	SEV (n=207)
pH	5.99 ± 0.15 ^a	6.00 ± 0.14 ^a	5.99 ± 0.13 ^a
L*	56.91 ± 2.68 ^b	57.32 ± 2.71 ^{ab}	57.83 ± 2.77 ^a
a*	1.83 ± 1.04 ^a	1.85 ± 1.10 ^a	1.62 ± 0.96 ^a
b*	8.37 ± 2.01 ^a	7.94 ± 1.77 ^a	8.29 ± 1.75 ^a

*Means followed by different letters on the same line differ by Tukey test at the 5% significance level (P<0.05).

** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

3. WS dimensions

Cranial thickness (T1) measurement presented high values for SEV group and low values for NORM group and intermediate values for MOD group (Table 3). The others dimensions measured did not differ among three meat groups (Table 3). Kuttappan et al. (2009) found higher values of width and thickness of cranial, middle and caudal for the SEV group when compared to other groups of WS.

Lubritz et al. (1997) supports this idea and revealed that the increase in the fillet thickness have seven times more impact on weight fillets than the same increase in parameters such as length and width fillets. Kuttappan et al. (2013a) also found that the risk of WS occurrence in chicken fillets (MOD and SEV) is associated with heavier birds with thicker fillets. Thus, it emphasizes the relationship between the increases in growth rate, muscle size bird with an increased incidence of myopathy in muscle tissue (DRANSFIELD; SOSNICKI, 1999).

Table 3 – Dimensions of chicken breast meat classified in different WS degrees

Dimensions (mm)	NORM (n=112)	MOD (n=341)	SEV (n=207)
Cranial thickness (T1)	28.91 ± 5.72 ^c	29.10 ± 5.85 ^b	30.69 ± 5.24 ^a
Caudal thickness (T2)	8.51 ± 3.01 ^a	8.86 ± 2.88 ^a	9.47 ± 5.73 ^a
Length (L)	145.52 ± 11.30 ^a	145.24 ± 11.92 ^a	147.71 ± 12.89 ^a
Width (W)	161.35 ± 13.25 ^a	162.42 ± 13.15 ^a	161.48 ± 11.91 ^a

* Means followed by different letters on the same line differ by Tukey test at the 5% significance level (P<0.05).

** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

4. Histological evaluation

The histopathological evaluation of the breast muscle stained with HE and cross section (Table 4), verified a larger diameter of the fibers ($p < 0.05$) in SEV samples. In addition to presenting the largest diameters, there was a greater space between the muscle fibers, as it happens with the PSE phenomenon. Even though no changes were observed in the water retention capacity for this myopathy, according to previous studies, in the same way as with PSE meats (BARBUT et al., 2005), which affect the processing of meat products.

Table 4 – Fiber diameter (cross section, increase 40x) of chicken breast meat classified in different WS degrees

	NORM	MOD	SEV
	(n=250 fibers)	(n=250 fibers)	(n=250 fibers)
Fiber diameter (μm)	153.84 \pm 31.33 ^b	157.36 \pm 30.51 ^b	164.70 \pm 26.01 ^a

* Means followed by different letters on the same line differ by Tukey test at the 5% significance level ($P < 0.05$).

** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

The histopathological evaluation of the breast muscle were verified the presence of alterations such as fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate in SEV samples (Fig 1 and 2) when compared to NORM sample (Fig 3). Russo et al. (2015), also verified lesions in WS samples and they were affected by a multifocal and polyphasic degenerative and necrotizing myopathy. This characteristics were also proven by Kuttappan et al. (2013b).

According to these authors the histopathological analyzes showed a degenerative myopathic lesions along with chronic replacement of muscle damaged with adipocytes and fibrosis in muscle tissue in SEV samples. They observed microscopic lesions such as floccular/ vacuolar degeneration, lysis, mild mineralization, occasional regeneration, and interstitial inflammation along with fibrosis.

Like these authors, the present study also found several fragmented muscle fibers in the SEV samples. In a previous study, we found significant differences in the chemical composition of WS chicken breasts. Samples classified as SEV presented higher values of lipids and higher content of collagen. However, when it was verified by Masson's trichrome staining, this increase was not verified in fibrosis and lipidosis as reported by Kuttappan et al. (2013b).

These results were similar to Ferreira et al. (2014), researchers who also carried their research in Brazil. For them no atrophy of the fibers was observed. And for MOD and SEV samples there was no evidence of connective tissue proliferation in the histological sections. However, for the same researchers, MOD and SEV samples showed differences in muscle fibers integrity, with evidence of myofibrillar degeneration. And up to myofibrillar degeneration, moderate multifocal necrosis or diffused and strong necrosis in the SEV samples.

This difference in results can be attributed to the classification system of WS samples. All reported studies rated their samples visually at the three severity degrees: NORM, MOD or SEV. But, another myopathy could be related to WS. It is known that the phenomenon Wooden Breast is visually hard, outbulging and pale and often accompanied with WS (SIHVO et al., 2014).

Sihvo et al. (2014) verified that samples classified as Wooden Breast with White striping histologically exhibited moderate to severe polyphasic myodegeneration with regeneration as well as a variable amount of interstitial connective tissue accumulation or fibrosis. Then, a sample could be classified as Severe, presenting striations on its surface, and presenting or not, the other typical characteristics of the Wooden Breast.

Fig 1. Histological section of skeletal muscle (SEV samples). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fibers with fragmented cytoplasm. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

Fig 2. Histological section of skeletal muscle (SEV sample). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fiber with fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate (arrow). Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

Fig 3. Histological section of skeletal muscle (NORM sample). Muscular fibers in longitudinal section with normal aspect. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

5. Proximate chemical composition

The moisture analysis, protein, ash and soluble collagen showed no significant differences between the different degrees of WS (Table 5). However, lipids and total collagen contents were significantly ($p < 0.05$) higher in the SEV group (Table 5).

Recent studies have reported differences in histological samples with striations on the surfaces of chicken fillets. Kuttappan et al. (2013b) reported that the

WS could be associated with a very rapid rate of growth that would have resulted in excessive increasing or tissue ischemia, resulting in damage to the muscle and early reparative responses. These responses, according to the authors, could have failed and took a different phase leading to an accumulation of fat degeneration, and thus explaining evidence lipodosis and fibrosis in the samples with WS, corroborating the results found in chemical composition.

Petracci et al. (2014), which despite of a significant decrease in protein content, also had higher values for lipids and collagen to the SEV group, and attributed these results, a degenerative process of muscle fibers, as well as Ferreira et al. (2014). Mudalal et al., (2014) despite not classify samples with WS MOD or SEV also reported an increase in the content of lipid and collagen to chicken samples with striations, but noted a lower protein content and ash when comparing to NORM samples.

The total collagen/protein ratio was higher for SEV degree samples when compared to others samples. This increase was similar to that found by Petracci et al., (2014), in which the nutritional quality of the protein of chicken meat samples are reduced due to the low digestibility and collagen deficiency of essential amino acids in connective tissue (ROGOV et al., 1992; ZARKADAS, 1992; TRINDADE et al., 2004).

Table 5 - Proximate chemical composition, total and soluble collagen, collagen/protein ratio of the NORM and WS samples

Proximate	NORM (n=10)	MOD (n=10)	SEV (n=10)
Chemical			

Composition			
Moisture (%)	76.31 ± 1.77 ^a	75.60 ± 1.88 ^a	75.66 ± 1.63 ^a
Protein (%)	21.45 ± 1.50 ^a	21.92 ± 1.82 ^a	21.80 ± 1.55 ^a
Ash (%)	0.94 ± 0.10 ^a	0.96 ± 0.12 ^a	0.98 ± 0.10 ^a
Lipids (%)	1.00 ± 0.07 ^b	1.03 ± 0.14 ^b	1.27 ± 0.16 ^a
Total Collagen (g.100 ⁻¹)	0.82 ± 0.16 ^b	0.89 ± 0.31 ^b	1.16 ± 0.27 ^a
Soluble Collagen (g.100 ⁻¹)	0.36 ± 0.19 ^a	0.34 ± 0.09 ^a	0.29 ± 0.14 ^a
Collagen: protein ratio	3.86 ± 0.81 ^b	4.04 ± 1.32 ^{ab}	5.40 ± 1.51 ^a

* Means followed by different letters on the same line differ by Tukey test at the 5% significance level (P<0.05).

** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

6. WHC, CL, SF evaluation

The CL values were higher for the SEV group when compared to MOD and NORM samples (Table 6). Mudalal et al. (2014), although they did not classify the WS samples at levels of severity, also verified a significant increase in the percentage of CL in WS samples when compared to NORM samples.

Petracci et al. (2013) also found higher CL values for SEV group and reported that this group has a reduced ability to retain liquid during cooking, due to

impaired of protein functionality. However, Kuttappan et al. (2013a), did not found significant differences among different degrees of severity of the WS.

In relation to WHC the WS did not influence (Table 6), the WS seems not cause huge metabolic abnormalities in muscle, which reflect the WHC, as also observed by Kuttappan et al., (2013a), since the pH did not show significant differences. Unlike other phenomena, such as the PSE (Pale, Soft and Exudative) in which the fillets have a paler appearance as a result of a lower pH value (SWATLAND, 2008), which compromises the functional quality of raw materials due to denaturation of myofibrillar proteins, impairing industrial productivity (OLIVO et al., 2006).

The SF values were higher for SEV group when compared to other degrees of WS (Table 6)., similar results were obtained by Petracchi et al. (2013) that observed higher values of SF for the SEV group in marinated cooked samples and raw chicken samples. However, Kuttappan et al. (2013a) and Mudalal et al. (2014), found no difference between the WS classifications on the samples cooked by Meullenet-Owens Razor Shear (MORS) energy values and Shear Force (kg), respectively. Sanchez Brambila et al. (2016) evaluated the sensory attributes of texture in chicken breast fillets WS cooked in their different degrees of severity with trained judges and reported significant differences in cohesiveness, hardness and chewiness to the SEV group compared to other classifications, highlighting the change in texture caused by WS when cooked.

The texture results of the cooked samples can be attributed to the results of CL as the samples of the SEV group have high water losses by cooking, that affect the texture, reinforcing the idea that the WS not only affects the appearance of the fillets chicken, but also the quality.

Table 6 – Biochemical parameters of chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV)

	NORM (n=10)	MOD (n=10)	SEV (n=10)
CL (%)	22.67 ± 4.90 ^b	22.69 ± 5.14 ^b	30.55 ± 7.00 ^a
WHC (%)	67.63 ± 1.68 ^a	66.85 ± 3.01 ^a	65.98 ± 1.90 ^a
SF (N)	23.57 ± 3.65 ^b	25.36 ± 6.09 ^b	32.17 ± 6.82 ^a

* Means followed by different letters on the same line differ by Tukey test at the 5% significance level ($P < 0.05$).

** CL = cooking loss, WHC = water holding capacity, SF = Shear force

*** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

It was observed that there were no significant differences ($p < 0.05$) between the classifications for both analysis (Table 7).

Díaz-Vela et al. (2008), the more alkaline the pH of the meat proteins, the greater their emulsification capacity. The results of the initial pH analysis of the analyzed samples did not present significant differences for the groups tested, without influencing the analysis of the emulsification capacity.

In addition, it is known that WS samples show differences in the centesimal composition (MUDALAL et al., 2014; PETRACCI et al., 2014). A lower amount of protein and a higher proportion of lipids in the muscle tissue of samples classified as Severe were not sufficient to influence the emulsification capacity. Silva et al. (2012), stating that the higher the protein concentration, greater the encapsulation capacity of the fat globules and, therefore, greater emulsification capacity.

It is known that the samples visually affected by WS myopathy are destined to manufacture products so as not to influence the purchase of the consumers. And according to the present study, the use of these meats not modify the structure of the products, like a PSE meat, for example. According to Kissel et al. (2009), the chicken

mortadellas produced with PSE meat require additives to enhance the functional properties of the PSE meat.

Table 7 – Results of pH and EC of chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV)

Samples (n=60)	NORM	MOD	SEV
pH	5.87 ± 0.10 ^a	5.91 ± 0.12 ^a	5.92 ± 0.09 ^a
EC (mL.100 mg ⁻¹)	29.80 ± 2.38 ^a	29.24 ± 1.72 ^a	29.43 ± 2.69 ^a

* Means followed by different letters on the same column differ by Tukey test at the 5% significance level (P<0.05).

** EC = Emulsification capacity

*** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

The highest proportion of fatty acids in the samples analyzed were for 16:1n9 acid; 16:0; 18:3n6 and 18:2n6 (linoleic acid), even though there were no significant differences between the degrees studied (Table 8). Among them, the highest percentages belonged to linoleic acid, essential fatty acid for humans, since it exerts an important function in the maintenance of health and must be obtained by the diet of the individual (NOVELHO; FRANCESCHINI; QUINTILIANO, 2008; CHOQUE et al., 2014).

The 17:1n9 (8-heptadecenoic acid) and 20:4n-6 fatty acids showed significantly higher proportions for SEV samples when compared to the others (Table 8). For the 18:1n7 fatty acid (cis-vaccinic acid), the opposite was verified, presenting the lowest proportions for SEV samples, and the fatty acid 20:3n6 (8,11,14-

eicosatrienoic acid) and 22:5n6 presented significantly higher proportions in NORM samples (Table 8).

There were no significant differences between saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids (Table 8). Different from the results found by Kuttappan et al. (2012b), who verified that NORM samples had high percentages of SFA and low percentage of MUFA when compared to samples classified as SEV. For these researchers, the myristic, pentadecanoic, and arachidic acids were greatest in SEV fillets, whereas palmitic and stearic acids were greatest in NORM fillets. Oleic and Elaidic acids were greater in SEV fillets.

Finally, the PUFA/ SFA ratio indicates the quality of lipids, the higher this ratio, better the lipid quality due to the higher PUFA content. And according to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2010) recommends this ratio: 0.4, as a high intake of SFA can lead to the development of cardiovascular diseases. In the present study, all groups studied presented values above 0.4.

Table 8 – Fatty acid profile from chicken fillets visually classified in NORM or WS (MOD/SEV)

Fatty acids	NORM	MOD	SEV
14:1	0.609 ± 0.137 ^a	0.586 ± 0.108 ^a	0.656 ± 0.060 ^a
15:0	4.387 ± 0.855 ^a	4.272 ± 1.047 ^a	4.317 ± 1.022 ^a
15:1	0.092 ± 0.029 ^a	0.093 ± 0.024 ^a	0.111 ± 0.022 ^a
16:0	17.129 ± 2.617 ^a	17.145 ± 2.336 ^a	16.282 ± 1.665 ^a

16:1n9	12.570 ± 6.043^a	11.294 ± 6.358^a	$12.772 \pm 6,004^a$
17:0	0.121 ± 0.021^a	0.128 ± 0.024^a	$0.123 \pm 0,034^a$
17:1n9	4.441 ± 0.783^b	4.633 ± 1.386^b	5.265 ± 0.887^a
18:0	3.314 ± 0.909^a	3.475 ± 0.725^a	3.404 ± 0.727^a
18:1n7	6.751 ± 1.087^a	6.765 ± 1.034^a	3.856 ± 1.108^b
18:1n9	0.156 ± 0.043^a	0.161 ± 0.035^a	0.144 ± 0.016^a
18:2n6	20.547 ± 0.961^a	21.482 ± 2.818^a	23.289 ± 1.529^a
18:3n3	0.192 ± 0.072^a	0.197 ± 0.069^a	0.229 ± 0.052^a
18:3n6	18.655 ± 2.138^a	19.440 ± 1.273^a	19.222 ± 1.290^a
20:3n6	0.359 ± 0.204^a	0.299 ± 0.121^b	0.265 ± 0.058^b
20:4n6	0.315 ± 0.241^b	0.327 ± 0.106^b	0.460 ± 0.159^a
20:5n3	0.150 ± 0.020^a	0.150 ± 0.036^a	0.167 ± 0.012^a
21:0	1.448 ± 0.899^a	1.814 ± 0.244^a	1.836 ± 0.157^a
22:4n6	0.434 ± 0.317^a	0.404 ± 0.151^a	0.01 ± 0.220^a
22:5n3	0.937 ± 0.862^a	0.697 ± 0.397^a	0.517 ± 0.233^a
22:6n3	0.535 ± 0.243^a	0.514 ± 0.249^a	0.516 ± 0.191^a
22:5n6	0.991 ± 0.661^a	0.571 ± 0.228^b	0.490 ± 0.180^b
23:0	1.868 ± 0.686^a	1.439 ± 0.922^a	1.661 ± 0.238^a

SFA*	28.265 ± 6.262 ^a	28.272 ± 6.268 ^a	27.622 ± 5.904 ^a
MUFA**	24.610 ± 4.955 ^a	23.531 ± 4.536 ^a	22.803 ± 4.889 ^a
PUFA***	43.060 ± 8.078 ^a	44.177 ± 8.471 ^a	45.565 ± 8.854 ^a
PUFA/MUFA	1.750 ^a	1.877 ^a	1.998 ^a
PUFA/SFA	1.523 ^a	1.563 ^a	1.650 ^a
n6/n3	25.354 ^a	32.779 ^a	39.910 ^a

^{a-b} Means followed by different lowercase letters on the same line differ by Tukey test at 5% probability ($p \leq 0.05$).

* SFA – Saturated Fatty Acid;

**MUFA – Monounsaturated Fatty Acid;

***PUFA – Polyunsaturated Fatty Acid.

**** WS = White Striping; NORM= Normal; MOD=Moderate; SEV=Severe

CONCLUSION

The incidence of WS in the slaughterhouse studied was greater than 50% in the most severe degree of myopathy. The WS phenomenon macroscopically affect the chicken breasts, with the presence of striations, and changes in luminosity parameter and cranial thickness, as well as changes in microscopic structures, like diameter fibers changes, and presence of fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate. The presence of WS abnormality modifies the broiler breast quality by influencing in particular the lipid and collagen content, and consequently affects the juiciness of the cooked samples. Therefore, there is the necessity for further studies to apply affected WS chicken fillets in the development of meat products and identify the causes of myopathy to adopt preventive measures.

ETHICS COMMITTEE

This study was approved by the Ethics Committee and Animal Welfare (CEUA / UEL), the home institution (Protocol: 3159.2016.00).

ACKNOWLEDGMENTS

The National Council for Scientific and Technological Development - CNPq for the PhD scholarship.

REFERENCES

Allen CD, Russel SM, Fletcher DL. The relationship of broiler breast meat color and pH to shelf-life and odor development, *Poult. Sci.* 1997;76, p.1042-1046.

Alnahhas N, Berri C, Chabault M, Chartrin P, Boulay M, Bourin MC, et al. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. *BMC Genet.* 2016;17(1):1-9.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 2012.

19 ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists,

Barbut S. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat, *Food Res. Int.* 1993;26:39-43.

Barbut S, Zhang L, Marcone M. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. *Poult. Sci.* 2005; 84:(5)797-802.

Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of a total lipid extraction and purification. *Journal of Biochemistry Physiology.* 1959;1:911-917.

Boulianne M, King JA. Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. *Poult. Sci.* 1995;74:1693-1698.

Bratzler LJ. 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; 1949. p. 117.

Choque B, Catheline D, Rioux V, Legrand P. Linoleic acid: Between doubts and certainties. *Biochimie.* 2014;96: 14-21.

Díaz-Vela J, Pérez-Chabela ML, Totosaus A. Efecto del pH y de la adición de fosfatos de sodio sobre las propiedades de gelificación y emulsion de surimi de trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2008;28(3).

Dransfield E, Sosnicki AA. Relationship between muscle growth and Poultry meat quality. *Poult. Sci.* 1999;78:743-746.

Dubowitz V, Brooke M. *Muscle biopsy: a modern approach.* London, Sanders, 1973.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fast and fatty acids in human nutrition. Roma: FAO, 2010. 180 p.

Ferreira TZ, Casagrande RA, Vieira SL, Driemeier D, Kindlein L. An investigation of a reported case of White striping in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 2014;23:748-753.

Fletcher DL. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. *Poult. Sci.* 1999; 78:1323-1327.

Hamm R. Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research.* 1960. v. 10, p. 355-362.

Honikel KO. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 1998;49(4):447–457.

ISO – International Organization for Standardization. Animal and vegetable fats and oils – preparation of methyl esters of fatty acids. Method ISSO 5509, 1978.

Kissel C, Soares AL, Rossa A, Shimokomaki M. Functional properties of PSE (Pale, Soft, Exudative) broiler meat in the production of mortadella. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2009;52.

Kolar K. Colorimetric determination of hidroxiproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMK collaborative study. *J. AOAC Int.* 1990;73: 54-57.

Kuttappan VA, Brewer VB, Clark FD, Mckee SR, Meullenet JF, Emmert JL, et al. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. *Poult. Sci. (Abstract)*. 2009;88(ESuppl.1):136-137.

Kuttappan VA, Lee YS, Erf GF, Meullenet J-F, Mckee SR, Owens CM. Consumer acceptance visual appearance of broiler breast meat. *Poult. Sci.* 2012a;91:1240-1247.

Kuttappan VA, Brewer VB, Apple JK, Waldroup PW, Owens CM. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 2012b;91:2677- 2685.

Kuttappan VA, Brewer VB, Mauromoustakos A, Mckee SR, Emmert JL, Meullenet JF, et al. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 2013a;92:811-819.

Kuttappan VA, Shivaprasad HL, Shaw DP, Valentine BA, Hargis BM, Clark F, et al. Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poult. Sci.* 2013b;92:331-338.

Lorenzi M, Mudalal S, Cavani C, Petracchi M. Incidence of White striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy. *J. Appl. Poult. Res.* 2014;23:754-758.

Lubritz DL. A statistical model for White meat yield in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 1997;6(03):253-259.

Mehaffey JM, Pradhan SP, Meullenet JF, Emmert JL, Mckee SR, Owens CM. Meat quality evaluation of minimally aged broiler breast fillets from five commercial genetic strains. *Poult. Sci.* 2006;85:902-908.

Mudalal S, Babini E, Cavani C, Petracci M. Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by White striping. *Poult. Sci.* 2014;93:1-9.

Novelho D, Franscescini P, Quintiliano DA. A importância dos ácidos graxos ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. *Revista Salus.* 2008;2(1):77-87.

Oliveira LB, Soares GJD, Antunes PL. Influência da maturação de carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas de peso por cozimento. *RBA.* 1998;4:166–171.

Olivo R, Shimokomaki M. *Carnes: no caminho da pesquisa*, 2º Ed., Cocal do Sul: Imprint, 2001, 155p.

Olivo R, Shimokomaki M. Carne PSE. In: SHIMOKOMAKI et al. *Atualidades em Ciência e Tecnologia de carnes*. São Paulo, SP: Varela, 2006. p. 85-103.

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. *Poult. Sci.* 2013;92:1670-1675.

Petracci M, Mudalal S, Babini E, Cavani C. Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. *Ital. J. Anim. Sci.* 2014;13:179-183.

Petracci M, Mudalal S, Soglia F, Cavani C. Meat quality in fast-growing broiler chickens. *World's Poult. Sci. J.* 2015;71:363-374.

Rogov IA, Tokaev ES, Kovalev YI. Collagen and its rational content in meat products: part 1. Analytical studies. *Meat Sci.* 1992;31:35-42.

Russo E, Drigo M, Longoni C, Pezzotti R, Fasoli P, Recordati C. Evaluation of White Striping prevalence and predisposing factors in broilers at slaughter. 2015;94:1843-1848.

Sanchez Brambila G, Bowker BC, Zhuang H. Comparison of sensory texture attributes of broiler breast fillets with different degrees of white striping. *Poult. Sci.* 2016; 95(10): 2472-2476.

Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the Pectoralis major muscle of broilers. *Vet. Pathol.* 2014;5(3): 619 – 623.

Silva LCC, Silva JA, Darros-Barbosa R., Romanelli PF. Avaliação da solubilidade das proteínas miofibrilares, capacidade de emulsificação e perda por cocção, evaporação e gotejamento das carnes de ema, avestruz e frango. *Alim. Nutr.* 2012;23(4):647-653.

Soares AL, Lara JAF, Ida EI, Guarnieri PD, Olivo R, Shimokomaki M. Variation in the colour of brazilian broiler breast fillet. In: Proc. International Congress of Meat Science Technology; 2002, n.2, p-540-541.

Souza SMA, Sobral PJA, Menegalli FC. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2004;24(4): 619-626.

Swatland HJ. How pH causes paleness or darkness in chicken breast meat. Meat Sci. 2008;80(1):396-400.

Swift CE, Lockett C, Fryar AJ. Comminuted meat emulsions: the capacity of meat for emulsifying fat. Food Technol. 1961;15(11):468-473.

Trindade MA, Felício PE, Castillo CJC. "Mechanically separated meat of broiler breeder and white layer spent hens," Sci. Agric. 2004;61(2):234-239.

Woessner JR JF. The determination of hidroxiprolina in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. Arch. Biochem. Biophys. 1961;93:440-447.

Zarkadas CG. Assessment of the protein quality of selected meat products based on their amino acid profiles and their myofibrillar and connective tissue protein contents. J. Agric. Food Chem. 1992; 40:790-800.

Appendix

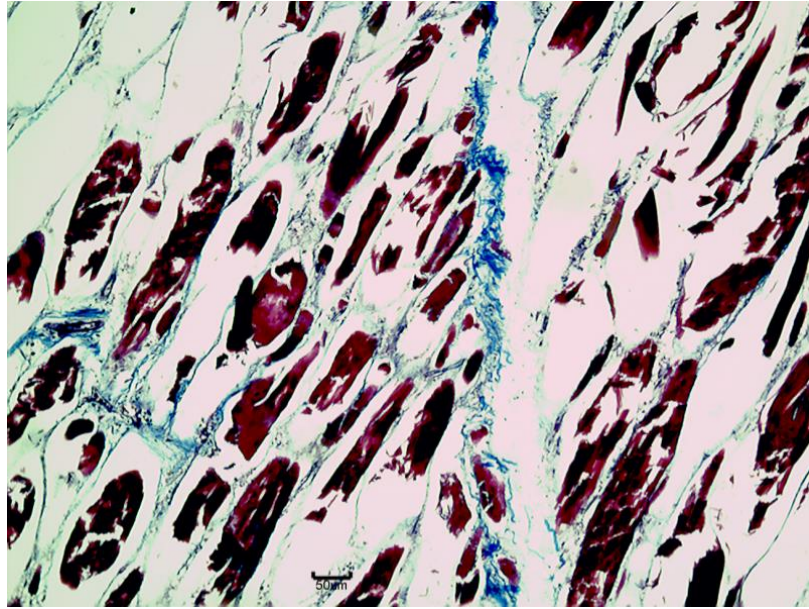


Fig 1. Histological section of skeletal muscle (SEV samples). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fibers with fragmented cytoplasm. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

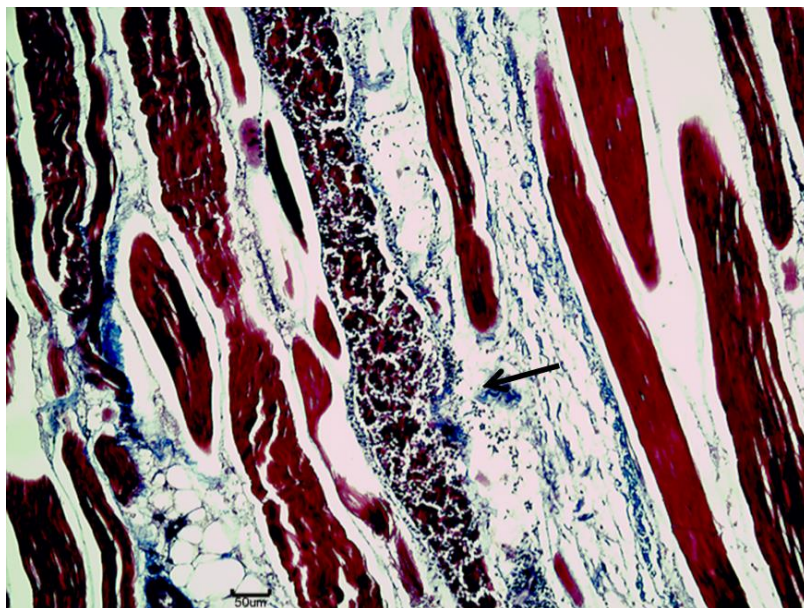


Fig 2. Histological section of skeletal muscle (SEV sample). Muscular fibers in longitudinal section with muscular fiber with fragmented cytoplasm and inflammatory infiltrate (arrow). Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

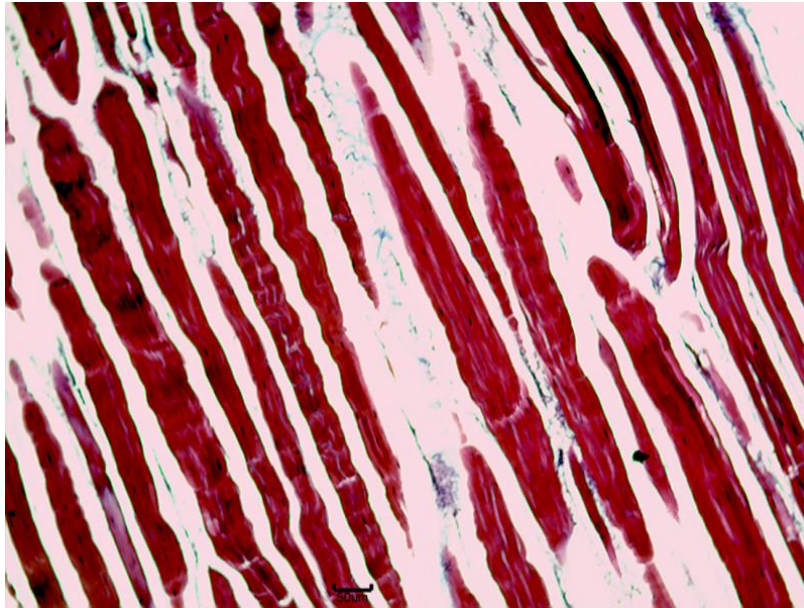


Fig 3. Histological section of skeletal muscle (NORM sample). Muscular fibers in longitudinal section with normal aspect. Masson's Trichrome Staining (Bar = 50 μ m).

ARTIGO CIENTÍFICO 2

POULTRY MEAT WHITE STRIPING DEGREE ASSESSMENT USING COMPUTER
VISION SYSTEM AND CONSUMER ACCEPTANCE TEST

T. Kato^{*}, S. M. Mastelini[†], G. F. C. Campos[†], A. P. A. C. Barbon[‡], S. H. Prudencio^{*}, M.
Shimokomaki[‡], A. L. Soares^{*}, S. Barbon Jr.[†]

^{*} Department of Food Science and Technology, State University of Londrina (UEL), Brazil

[†] Department of Computer Science, State University of Londrina (UEL), Brazil

[‡] Department of Animal Science, State University of Londrina (UEL), Brazil

Abstract

White striping (WS) affects the quality and the appearance of raw poultry meat. This phenomenon is identified by visually subjective observations, although they are susceptible to errors during these processes. This study introduces the use of a computer vision system to classify WS broiler breast fillets automatically. It aims to evaluate consumer acceptance and purchase intention of broiler breast fillets with different degrees of WS. The samples for image analysis were classified by trained specialists, according to severity degrees regarding visual and firmness aspects. These samples were obtained with a digital camera, and 25 features were extracted from these images. Machine learning algorithms were applied aiming to induce a model capable of classifying the samples into three severity degrees. In addition, two sensory analyses were performed: 75 samples properly grilled were used for the first sensory test, and 9 photos for the second. All tests were performed using a 10-cm hybrid

hedonic scale (for the acceptance test) and a 5-point scale (for purchase intention). The Information Gain metric ranked 13 attributes. However, just one type of image feature was not enough to describe the phenomenon. The proposed system has proved to be adequate for the classification of WS samples, and may become a useful method for fast and accurate assessment of broiler samples in a large scale. The sensory analysis of acceptance showed that WS myopathy negatively affects the tenderness of the broiler breast fillets when grilled, as well as the appearance attribute of the raw samples, which eventually influenced purchase intentions.

Keywords: appearance, broiler breast fillet, classification, digital image, sensory analysis.

1. INTRODUCTION

White striping (WS) has been causing concern to the poultry industry recently due to meat quality effects, leading to American consumers' rejection owing to the product appearance (Kuttappan et al. 2012). WS is characterized by the appearance of white striations on broiler breast fillets and thighs, parallel to the direction of the muscle fibers (Kuttappan et al. 2009; 2012). WS classification proposed by Kuttappan et al. (2009; 2012) based on the severity: Normal (NORM), Moderate (MOD) or Severe (SEV). However, this visual classification is subjective; i.e., anyone can underestimate the size or amount of striations in the sample surface.

Recently, new techniques have been used to evaluate meat quality in a fast and reliable way. Image analysis has gained interest in analytical chemistry applications due to its simplicity, low cost and speed of response (Du and Sun 2004; Barbin et al. 2016). Additionally, Computer Vision Systems (CVS) have been applied in several meat industry

applications to eliminate human bias during visual evaluation (O'sullivan et al. 2003; Chmiel et al., 2012). Many of CVS apply Machine Learning (ML) techniques to simulate human decision making. In fact, ML methods have been widely used for food classification and evaluation of spoilage, frauds, color, or to determine the most relevant parameters to assess meat quality (Sun et al. 2012; Kamruzzaman et al. 2013; Argyri et al. 2013; Barbon et al. 2016).

The poultry processing industry would benefit from a fast and precise system that could evaluate poultry breast by image, and classify samples according to striation quantity and distribution, replacing the current subjective evaluation of WS assessment. The objective of this study was to determine the efficacy of using a CVS to classify broiler breast fillets in three degrees of WS (the most appropriate ML approach and the best set of image attributes to explain WS), as well as to evaluate consumer acceptance and purchase intent to these samples.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Data samples and trained panelist assessment

For the present study, 20 poultry breast fillets for each degree of severity (mixed sex, 47 days old) (total of 60 samples), were collected and transported under refrigeration to the laboratory for further analysis. These samples followed the conventional steps of slaughter (hanging, electrical stunning, bleeding, scalding, defeathering, evisceration, cooling in chiller, deboning and refrigeration) in a commercial line in Southern Brazil.

The samples were evaluated in three severity degrees, according to Kuttappan et al. (2009; 2012. These degrees were: NORM (no striping on the surface), MOD (white lines, parallel to the muscle fibers with < 1 mm thick but easily visible on surface) and SEV (white

lines, parallel to muscle fibers, which were generally > 1 mm thick and very visible on the fillet surface). In addition to a visual classification, a tactile evaluation was made to remove possible doubts among MOD and SEV degrees. SEV samples showed a decrease in tenderness when compared to MOD samples. This study was approved by the Ethics Committee and Animal Welfare (CEUA / UEL, the home institution - Protocol: 3159.2016.00).

The samples were digitalized using a digital single-lens reflex camera, model Nikon D7000 (CMOS sensor, 16.2 megapixels, 4.928 x 3.262 pixels). The camera was placed above the samples, at a distance of about 37 cm. For each meat sample, two photographs were taken aiming to choose the best capture. All camera parameters were set to automatic configuration. In this manner, our dataset was made up of a total of 120 images. Some images refer to the same sample and were used to validate image feature ability to classify the samples in a degree of WS.

2.2. Software tools

Matlab was used to perform image processing routines for segmentation and to extract features from images. All the classification models were induced in *R* platform, with the *random Forest*, *kernelab*, *RSNNS*, and *frbs* packages for Random Forest, Support Vector Machine, Artificial Neural Network and Fuzzy Rule-Based System techniques, respectively.

In addition, the *caret* package was used to optimize the hyper-parameter choice during the model induction, and the *FSelector* package to choose the best subset obtained from image features.

2.3. General Overview of the Approach

Figure 1 presents an overview of our proposed system. The first step after meat sample WS assessment (by a trained panelist) was image acquisition (Step 1). The digital image was segmented (Step 2), and an illumination normalization process was performed (Step 3). The extremely bright pixels in the meat region, which were removed in segmentation (Step 2), were filled with information of neighbor pixels (Step 4). After, the image was subjected to a contrast enhancement technique in order to highlight the WS properties (Step 5).

From the resulting image, 25 features were extracted (Step 6), aiming to describe the WS behavior over meat surface. The most relevant subset of image features was investigated by a Feature Selection algorithm in these experiments. Using the panelist score, four supervised Machine Learning algorithms were tested (Step 7): Random Forest (RF), Support Vector Machine (SVM), Multilayer Perceptron (MLP), and a Fuzzy Rule-based System (FRBS). The mentioned steps of the proposed system will be explained in details in the following sections.

[Fig. 1 Overview of the Proposed System]

2.4. Image Acquisition

A common digital camera was used to capture the images. A blue paper was used as a standard background for image acquisition, aiming to get better contrast between the region of interest and other objects. In Fig. 2, it is possible to observe white rulers near the meat sample so that they can offer further information about size and color calibration values, as described in Barbin et al. (2016).

Due to the illumination normalization step, which will be described in Section 2.6, the environment illumination was not controlled for photographing. In fact, the room

environment light was used, consisting of fluorescent lamps and solar light. With the adoption of this approach, it was possible to minimize the effects of heterogeneous incident light over the regions of interest.

2.5. Segmentation

To accomplish image feature extraction from meat samples, firstly, it was necessary to segment the region of interest. Then, the segmentation step (number 1 in Fig. 1) started by background subtraction. It was done using a threshold on H channel from HSV (Hue, Saturation, and Value) color space. The threshold could be obtained using Otsu's technique, since it is one of the most accurate and widely used methods for image segmentation (Sahoo et al. 1988). A sample image before background subtraction is presented in Fig. 2(a). In Fig. 2(b), the result for background subtraction is shown.

Extremely bright pixels correspond to high intensities in each R, G and channels. These pixels are related to bright spots over the meat sample, a result of the surface reflex and the white rulers in the scene. They could be removed by a threshold value of each RGB channel, since they are not regions of interest for analysis. Removing pixels was the choice, since they had greater intensities than the average value of each channel.

Figure 2(c) shows the resulting image after the bright pixel removal. Some remaining non-meat areas were removed using a region growing algorithm. A binary mask was created with only two values: white, representing the meat, and black, representing other regions of the scene. Based on the size of image, small regions in mask were removed using a connectivity approach. After these processing steps, only the meat portion was kept in the image. Fig. 2(d) presents the resulting image after small region removal and binary mask match.

[**Fig. 2** Steps of meat segmentation approach: (a) Original image; (b) Background subtraction; (c) Extremely bright pixel removal; (d) Small region removal]

2.6. Illumination Normalization

After the segmentation step, the image illumination was normalized using the method described in Barbin et al. (2016), aiming to attenuate the effect of incident light spots. This method starts with a Gaussian blur filtering over an original image copy. It spreads the light spots increasing their radius, creating a gradient of intensity starting at the spot center.

The negative of the blurred image is taken so that the aforementioned spots become darker. The processed image is converted to the HSL color space to get only the reversed lightness information (the L channel). The L channel intensities can be combined with the original image to attenuate the lighter regions. An Overlay blend operation between the reversed lightness representation and the original image results in an illumination normalized image. The Overlay blend is given by the equation:

$$E = \frac{I}{255} \times \left(I + \frac{2 \times M}{255} \times (255 - I) \right)$$

Where E is the resulting image, I is the lower layer (the original image) and M the upper layer (the described lightness image). As a result, dark regions become darker and light regions become lighter, according to the L channel values. Based on the reversed lightness image, the light spots are attenuated and the regions with homogeneous illumination are less changed. The illumination normalization effect is shown in Fig. 3(b).

2.7. Meat region of extremely bright pixels filling

As it can be seen in Fig. 2(d), the resulting segmented region has some holes. They correspond to extremely bright pixels removed during the meat segmentation. The resulting black regions in the sample image may compromise the image features extraction, like texture descriptors, since these areas may be counted as a repetition pattern over meat surface. Therefore, a correction was applied to fill the aforementioned regions with the neighborhood pixel intensity information.

First, the image was converted to grayscale representation. Using the meat mask obtained from segmentation step, each black pixel inside the meat region was set to the average value of non-zero neighbor pixels. The pixel neighborhood was calculated using a square window with parametrized size. For the images used in the experiments, we set Window Size = 25 x 25 pixels. Fig. 3(d) shows a meat sample with filled extremely bright pixels.

2.8. Contrast enhancement

The normalized and filled image was subjected to the Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE) (Zuiderveld 1994). This technique was performed to increase contrast between meat region and WS. CLAHE technique has two parameters: Window Size, corresponding to the length of blocks to subdivide the image for equalization, and the *Clip Limit*, which sets a limit on contrast enhancement. For images with 4928 x 3262 of resolution, we suggest: Window Size = [64, 64] and Clip Limit = 0.07. Fig. 3 summarizes the image processing steps of our approach. The original image is presented in Fig. 3(a). Fig. 3(b), 3(c), 3(d), and 3(e) show the result of illumination normalization, meat mask match, extremely bright pixel filling, and contrast enhancement, respectively.

[**Fig. 3** Image processing steps of proposed approach: (a) Original image; (b) Illumination normalization; (c) Meat mask match; (d) Extremely bright pixels filling; (e) Contrast enhancement]

2.9. Feature extraction

Image features provide useful information for automatic classification (Campos et al. 2016). In this paper, a set of 25 image features was explored. It consisted of histogram-based values (Balaji et al. 2015), contrast and quality (Panetta et al. 2013) descriptors, gray level co-occurrence matrix (Chowdhury et al. 2015) and Fast Fourier Transform (FFT) spectrum domain features (Shen et al. 2013).

Histogram-based features describe the frequency distribution of pixel intensities over the image. Statistical measures (Mean, Median, Variance, Standard Deviation, Skewness, and Kurtosis) and other metrics related to the pixel distribution were calculated. These other metrics included the largest and the smallest histogram peaks, and the amount of non-zero values. The main contribution of histogram-based features is related to the aspects of tonal distribution without addressing spatial location and value concentration.

Contrast and Image Quality metrics are related to visual aspects of the image. They describe the perceiving level of separability between objects in a scene. The WS degree could be explained, among other aspects, through the variation of visual intensity between striations and muscle surface.

Gray level co-occurrence matrix stands for repetition patterns over the analyzed image. The periodicity of pixel neighborhood is calculated to describe the perceptual surface texture over the image. Based on the co-occurrence matrix, it is possible to detect patterns

with a high level of repeatability. The WS occurrence might be described regarding repetitions of thin regions (striations), over a homogeneous surface (meat).

A Fast Fourier Transform (FFT) can be applied to change the perspective of image analysis. Instead of using a spatial domain, where a pixel has a xy location and intensity, a Spectrum Domain (frequency) representation is obtained. This representation allows the detection of periodic patterns in images by finding narrow peaks of high energy in the spectrum domain. A complete list of all image features used in experiments is presented in Table 1.

[Table 1]

2.10. Machine Learning approaches

A classification task consists of an input vector describing a characteristic and deciding which of the N classes the data belong to. It is a supervised learning process, based on examples of N classes (Marsland 2015).

In a classification task, each instance (example) belongs to a class, and the set of classes covers the possible output domain. Sometimes an example might belong partially to more than one class, in this case, fuzzy classifiers should be used. In addition, a classification algorithm aims for generalization: produce sensible outputs for inputs not used in the training.

There are various classification methods. However, in general, all have the same objective: find decision boundaries to separate different classes. Some of these methods were briefly described below (Michalski et al. 2013). In this work, the performance of Random Forest, Multilayer Perceptron, Support Vector Machine and Fuzzy Rule-Based System are

compared. These algorithms were used for modelling classifiers used to analyze the WS degree based on features extracted from poultry meat images.

Random Forest (RF) method is an ensemble learning approach proposed by Breiman (2001). The main idea is the combination of many decision trees into a forest, naming the technique. Every tree inside the forest is built independently without pruning, by a subset of features. These features are chosen at random from all feature sets. The user must select the number of attributes used in each node and the number of trees inside the forest. Each tree in the forest uses a different training set, consisting of random sampling using a Bagging approach (Breiman 2001).

Multilayer Perceptron (MLP) feedforward network is an important class of neural networks (Haykin 1999). Usually, a network consists of three main components: an input layer, one or more hidden layers and, an output layer. The first layer receives the input values, which are computed in the nodes of hidden layer(s), giving an answer at the output layer. Information propagates through the network in the forward direction. The back-propagation (Haykin 1999) algorithm is often used to train the MLP networks. MLPs have been used to solve complex and diverse problems due to the generality of their application (Haykin 1999).

Support Vector Machine (SVM) is a method of the Machine Learning proposed by Vapnik (1995), belonging to the class of kernel based methods. The main idea is to find the best hyperplane to separate data into determined classes. Therefore, SVMs aim to maximize separability, finding the instances of the problem that lie at the margin between the classes. The described values are called support vectors. SVMs are widely used in Machine Learning tasks due to their high accuracy, flexibility, and capacity to deal with high dimensional data (Ben-Hur and Weston 2010).

Fuzzy Rule-Based Systems (FRBSs) are methods within soft computing, based on fuzzy concepts (Riza et al. 2015). These methods are effective tools to deal with problems

such as uncertainty, imprecision, and non-linearity. FRBSs are an extension of classical rule-based systems. They are mainly based on rules in the form "IF A Then B", where A and B are fuzzy sets. In these experiments, the Fuzzy-W technique, which is based on Ishibuchi's strategy (Ishibuchi et al. 1999), was applied.

2.11. Evaluation metrics

The Information Gain (IG) method was applied to reduce the problem of dimensionality by considering the original 25 features. This metric measures the feature capability to separate samples into classes of problem (Yang and Pedersen 1997). High IG value means more separation capability, in other words, a more important feature.

Each described classification model was run 50 times, using different train and test dataset configuration. A stratified holdout approach with 70% of the dataset for training was used. To evaluate the performance of the built classification models, Accuracy, Error Rate, Precision and Recall, the F-Score was used.

Accuracy refers to the overall system performance. It is defined as the number of instances that were correctly classified among all cases. The error rate is related to the rate of misclassified samples, and it is defined as $1 - \text{Accuracy}$. Precision is defined as the rate of true positives of a class X , among all instances classified as X . It shows the class agreement of the data labels with positive labels given by the predictor. Recall or sensitivity measures a classifier effectiveness to identify positive labels (classes). For each class, recall is defined as the number of true positive predicted cases, divided by the number of instances that belongs to the referred class. At last, the F-Score measures the relation between data positive labels and those given by the predictor.

2.12. Sensory Analysis

Two sensory analyses were performed. The study was approved by the Human Research Ethics Committee (from Londrina State University, 1.842.109, CAAE 61901316.8.0000.5231). The three severities of WS were evaluated in random order and sequential presentation. In order to determine whether WS characteristics affected the sensory of broiler breast fillets, acceptance and purchase intention tests were performed differently in two days to present the samples.

The first sensory analysis was performed with broiler breast fillets purchased from a commercial establishment (same brand, lot) in Londrina-PR city. The samples were visually classified into three degrees of WS severity established by Kuttappan et al. (2009; 2012): NORM, MOD and SEV, totaling 75 samples (25 samples from each WS degree). This test was performed at the Sensory Analysis Laboratory of the Londrina State University. For this analysis, each broiler breast fillet (about 100 g) was prepared with 1.80% sodium chloride and was grilled with 2 mL oil at 140°C until samples reached 72°C at 75°C internally (measured with spit thermometer with digital display). After this step, fillets were cut (15 g), served in white disposable plates properly coded with 3 random digits. Consumers were placed in individual cabins, where they received instructions on the use of the scales.

For this test, 102 untrained judges were invited, all habitual broiler meat consumers. The consumer group consisted of 46.15% males and 53.85% females. In these groups, 95.19% are undergraduate students, who consume broiler meat 1-3 times a week (67,31%).

Consumers were asked to try the samples and evaluate them individually through a card using the 10 cm hybrid scale (0= dislike extremely; 10 cm = like extremely). Finally, consumers evaluated their purchase intention regarding broiler breast fillets by using a 5-point

structured scale (1 = certainly would not buy to 5 = certainly would buy). And they were also asked to explain what they liked or disliked about each fillet, in case they wanted to do so.

The second sensory test applied was the acceptance and purchase intention, that took place at the Comtour mall in the city of Londrina-PR, in front of a supermarket. One hundred and five untrained judges, who consume broiler meat regularly were clarified regarding the sensory tests. Subsequently, they received color photos of broiler breast fillets in actual sizes (photographed individually on foam trays used for commercialization, with a digital camera Sony Cyber Shot DSC-S950 10.1 mega pixels) in three degrees of WS in a random order (coded with 3 random digits). Evaluators consisted of 40.0% males and 60.0% females; ranging 36-50 years old (52.38%), most of them with elementary education (59.05%) and who consume broiler meat from 1-3 times a week (53.33%).

In total, 9 photos were prepared for this analysis (3 samples from each WS degree). And participants answered using the same method of evaluation mentioned: 10-cm hybrid hedonic scale (for Acceptance Test) and 5-point scale (for Purchase Intention). They were also asked to explain what they liked or disliked about each fillet, in case they wanted to do so.

2.13. Statistical Analysis

The results of all analysis were evaluated by analysis of variance (ANOVA) and comparison of Tukey test averages at 5% probability ($p \leq 0.05$) among the three WS classifications using the Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, USA) program.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Considering the results of the proposed approach, it is possible to claim that our CVS can classify WS degree with considerable accuracy (86%). Table 2 summarizes the results obtained during the experiments for each ML algorithm. The techniques were sorted from the best to the worst using algorithm accuracy. It is possible to perceive that SVM, Fuzzy-W, and RF obtained very similar general accuracy, about 86.4%. The worst performance was achieved by MLP (70.9%), which was related to the high error rate when predicted NORM meat samples. In fact, in these experiments it was determined that MLP was almost not able to handle with NORM degree samples, reflecting the strictly lower values obtained for Precision, Recall, and F-Score.

[Table 2]

Considering the three best techniques, RF and SVM presented greater standard deviation values (7.06% and 7.27%, respectively) when compared to Fuzzy-W (6.89%). As it can be seen in the accuracy boxplot (Fig. 4), SVM presented some outliers below the first quartile. RF had no outliers but showed the widest box, an indication of performance variability during training and test repetitions. The outliers obtained for SVM are an indication of instability of this method, depending on the train and test set configuration. In some cases, Fuzzy-W and RF obtained 100% of accuracy, however, Fuzzy-W presented the narrowest box, which indicates that this method was the most stable and robust technique for WS poultry meat degree prediction.

[**Fig. 4** Boxplot of model accuracy in classification of NORM, MOD, and SEV poultry meat WS degree]

Concerning the importance of specific image feature to assess the WS degree, it was possible to rank them by IG. Out of the original set of 25 features, only 13 attributes were relevant for classifying the WS degree. The IG of other attributes was equal to zero, thus they were not used to train the ML models. Fig. 5 presents the ranking of image feature importance.

[Fig. 5 Importance of image features for WS degree assessment]

Feature 22, 12, 23, and 3 obtained the highest values of importance ($IG > 0.2$). Feature 22 is a texture attribute extracted from gray level co-occurrence matrix, and describes the squared sum of co-occurrence matrix elements. In other words, it measures intensity pattern repeatability, like striations. Feature 12 is a histogram-based feature, measuring the mean intensity amplitude of the image. The striations are brighter than meat, so it could be a separating factor to determine the WS degree. The separability of striations and meat can also be explained through Image Entropy (Feature 23), a statistical measure of randomness that can be used to characterize texture and contrast. At last, FFT Homogeneity (Feature 3) is another metric used to describe texture.

With less importance, features 14, 1, 9, 6, 24, 19, 13, 25, and 20 belong to different groups of image features. This result shows that just one type of image feature is not enough to deal with the WS degree assessment task. The remaining image features - features 2 (FFT Entropy), 4 (FFT Inertia), 5 (Amount of non-zero groups in intensity histogram), 7 (Peak of the largest non-zero group in intensity histogram), 8 (Peak of the smallest non-zero group in intensity histogram), 10 (Length of the largest non-zero group in intensity histogram), 11 (Peak of the smallest non-zero group in intensity histogram), 15 (Variance of the intensity histogram amplitude), 16 (Amount of non-zero values on intensity histogram), 17 (Peak of

intensity histogram), 18 (Entropy of gray level co-occurrence matrix), and 21 (Correlation of gray-level co-occurrence matrix) - offered no contribution to describing WS degrees. They belong to different groups of image features, which reinforces the fact that just one technique for feature extraction is not powerful enough to describe all visual characteristics of WS phenomena.

3.1. Hits and Misses

Figure 6 demonstrates the sample-by-sample accumulated error rate, once the error rate starts from 0 (no error) to 1 (error in all tests) illustrated from white to blue color. The measure of errors was based on the ratio of misclassification to all determinations. As evidenced in Table 2, the lowest performance was achieved by MLP. This approach misclassified NORM degree samples in almost all cases, as shown in Fig. 6. Despite that, SVM, Fuzzy-W and RF obtained low accumulated error. Depending on training set combination, some pattern is obfuscated, decreasing the generalization capability. However, some samples presented high error rate for all classification algorithms. These samples correspond to the dark vertical aligned cells present in Fig. 6.

[Fig. 6 Accumulated misclassification predictions over 50 executions for classification of poultry meat samples in NORM, MOD, and SEV white striping degrees]

Table 3 summarizes four of most misclassified images: 3, 23, 83, and 84. These images were misclassified by all algorithms in more than 40 executions. Image 3, which is related to meat Sample 4, was classified as NORM by the trained panelist, and SEV by the ML techniques. Image 23 (Sample 34) was predicted as SEV, and it was MOD. Similarly,

images 83 (Sample 25) and 84 (Sample 42) were predicted as SEV by the panelist, and MOD by the ML techniques.

[Table 3]

The visual distinction between NORM and SEV degrees is more pronounced than NORM and MOD, or MOD and SEV cases. In this way, misclassifying NORM as SEV is more impactful for the proposed WS assessment solution. This fact occurred in the classification of Image 3. In order to diagnose the error, the features and the original image (Fig. 7) were investigated. In Fig 7, it is possible to observe some regions with an irregular surface in muscle, indicating a lack of sample preparation for image acquisition. These regions are highlighted and zoomed in Fig. 7, and present a very similar pattern of striations, as described by image features.

[**Fig. 7** Image 3 (Sample 4), a NORM sample misclassified by all ML techniques as SEV: the irregular surface in meat is highlighted and zoomed]

Figure 8 presents Image 3 after all the previously described image processing steps. The irregular surface of the meat was accentuated by the contrast enhancement technique towards very similar features to WS with SEV degree. It can be seen that the image feature values for this image were similar to SEV samples, leading to misclassification. Indeed, the meat sample preparation for image capturing is a major step of a CV approach. A lack of control may disrupt the striation visual characterization, decreasing the trained predictive modeling capability.

[**Fig. 8** Image 3 (Sample 4) after imaging processing steps: folds in meat were accentuated]

The misclassification variation for the other cases was of one degree. The visual characteristics of WS close degrees were very similar. Hence, the obtained error could be related to samples lying in inter-class separation margin. Besides, sometimes during WS level assessment, the specialist touched the samples to check its firmness. This occurred in some special cases, when only the visual classification caused uncertainty about the degree. SEV samples have a decrease in firmness when compared to MOD samples. This extra information is not related to visual aspects of meat and cannot be addressed by Computer Vision.

3.2. Sensory Analysis

The scores for the acceptance test and purchase intention of the grilled broiler breast fillets can be observed in Table 4. According to this study, it was evidenced that all hedonic grades of the acceptance attributes were between 7 and 8, indicating that, despite the classifications, all degrees of WS were accepted in appearance, aroma, flavor, texture and global acceptance.

Among the analyzed attributes, only texture showed significant differences ($p < 0.05$) between the classifications analyzed. Samples classified as SEV were the only ones that presented significant differences when compared to the others. Petracci et al. (2013), showed higher values for WS samples classified as SEV in cooking loss results (26.74%), due to loss of liquids resulting from protein denaturation during cooking. This information could have influenced our sensory results, since the samples were prepared on the grill, influencing the final texture of the broiler breast fillets. The appearance of the samples did not present

significant differences, as they passed through the grill that eventually camouflaged the characteristics of WS. They are predominantly located on the surface of the fillets.

Sanchez et al. (2016) observed that broiler breast fillets classified as SEV presented significant differences in the texture sensory descriptive analysis. The hardness attribute was the only one that differed the samples classified as SEV from the others. The same authors also attributed this greater effort to chewing the sample with the increase of the connective tissue content in the WS fillets. This increase in collagen content was also reported by Petracci et al. (2014) and Mudalal et al. (2014), attributing this increase to a degenerative process of muscle fibers.

[Table 4]

With the use of broiler breast fillets photos for the sensory analysis, all the hedonic scores of the appearance attribute were between 3 and 7 (Table 5), indicating a great variation in the values, unlike the previous sensory analysis for the same attribute. In this second sensory test, samples classified as SEV obtained the lowest scores for the appearance attribute and presented significant differences ($p < 0.05$) between the other WS degrees.

The photos, differently from the previous sensory test, had the objective of analyzing only the appearance attribute to simulate the products found in commercial establishments. According to the research comments, 20% of consumers were able to identify the presence of white lines characteristic of WS, and even without knowing its composition, they would reject the product by its appearance. 30% of consumers, in addition to identifying a presence of white striation, observed a fat-like surface deposition.

These comments were verified in the purchase intention notes. All means of the different classifications differed from each other. The highest mean was presented for the

samples classified as NORM, MOD, SEV, respectively. Therefore, with the increase in the WS samples severity degree, the notes of acceptance and purchase intention tests decrease.

These results were similar to those reported by Kuttappan et al. (2012), in which American consumers also evaluated photographs of samples in the three degrees of WS severity, through images selected and viewed through computers. These researchers concluded that the presence of striations (increasing of WS severity), decreases consumer acceptability of broiler breast fillets. According to this American research, more than 50% of consumers reported they probably would not/ definitely not buy the broiler breast fillets with any degree of white striation.

[Table 5]

4. CONCLUSION

CVS proved to be accurate, fast and robust for the classification of WS meat. The classification models SVM, fuzzy-W and RF showed the best results with similar general accuracy (86.4%). The worst performance was obtained by MLP (70.9%) with the high error rate in NORM sample predictions. The sensory analysis of acceptance verified that WS myopathy negatively affects the texture of the broiler breast fillets when grilled and the appearance attribute of the raw samples, which influenced the purchase intention scores of raw samples. Therefore, the characteristics of WS samples could economically damage the sales of broiler breast fillets. The results were satisfactory, although further studies with physical-chemical analysis are needed to validate image analysis results and to implement this system in a real processing industry in a production line with a greater number of samples.

REFERENCES

- Argyri, A. A., Jarvis, R. M., Wedge, D., Xu, Y., Panagou, E. Z., Goodacre, R., Nychas, G.-J. E. 2013. A comparison of raman and ft-ir spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, 29(2), 461-470.
- Balaji, G., Subashini, T., Chidambaram, N. 2015. Automatic classification of cardiac views in echocardiogram using histogram and statistical features. *Procedia Comput Sci*, 46, 1569-1576.
- Barbin, D. F., Mastelini, S. M., Barbon, S., Campos, G. F., Barbon, A. P. A., Shimokomaki, M. 2016. Digital image analyses as an alternative tool for chicken quality assessment. *Biosystems Eng.*, 144, 85-93.
- Barbon, A. P. A., Barbon, S., Mantovani, R. G., Fuzyi, E. M., Peres, L. M., Bridi, A. M. 2016. Storage time prediction of pork by computational intelligence. *Comput Electron Agric*, 127, 368-375.
- Ben-Hur, A., Weston, J. 2010. A user's guide to support vector machines. *Data mining techniques for the life sciences*, 223-239.
- Breiman, L. 2001. Random forests. *Machine learning* 45(1), 5-32.
- Campos, G. F. C., Igawa, R. A., Seixas, J. L., Almeida, A. M. G., Guido, R. C., Barbon, S. 2016. Supervised approach for indication of contrast enhancement in application of image

segmentation. In: MMEDIA 2016, The Eighth International Conferences on Advances in Multimedia. p. 12-18.

Chmiel, M., Slowinski, M., Dasiewicz, K., Florowski, T. 2012. Application of a computer vision system to classify beef as normal or dark, firm, and dry. *J. Anim. Sci.*, 90, 4126-4130.

Chowdhury, S., Verma, B., Stockwell, D. 2015. A novel texture feature based multiple classifier technique for roadside vegetation classification. *Expert Syst Appl.*, 42(12), 5047-5055.

Du, C.-J., Sun, D.-W. 2004. Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. *Trends Food Sci Technol.*, 15(5), 230-249.

Fortin, A., Tong, A., Robertson, W., Zawadski, S., Landry, S., Robinson, D., et al. 2003. A novel approach to grading pork carcasses: computer vision and ultrasound. *Meat Sci.*, 63(4), 451-462.

Haykin, S. 1999. *Neural network: A compressive foundation.*

Ishibuchi, H., Nakashima, T., Murata, T. 1999. Performance evaluation of fuzzy classifier systems for multidimensional pattern classification problems. *Systems, Man, and Cybernetics, Part B: Cybernetics, IEEE Transactions*, 29(5), 601-618.

Kamruzzaman, M., Sun, D.-W., ElMasry, G., Allen, P. 2013. Fast detection and visualization of minced lamb meat adulteration using nir hyperspectral imaging and multivariate image analysis. *Talanta*, 103, 130-136.

Kuttappan, V., Brewer, V., Clark, F., McKee, S., Meullenet, J., Emmert, J., et al. 2009. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. *Poult. Sci.*, 88, 136-137.

Kuttappan, V., Lee, Y., Erf, G., Meullenet, J.-F., McKee, S., Owens, C. 2012. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poult. Sci.*, 91(5), 1240-1247.

Marsland, S. 2015. *Machine learning: an algorithmic perspective*. CRC press.

Michalski, R. S., Carbonell, J. G., Mitchell, T. M. 2013. *Machine learning: An artificial intelligence approach*. Springer Science & Business Media.

Mudalal, S.; Babini, E.; Cavani, C.; Petracchi, M. 2014. Quantity and functionality of protein fractions in chicken breasts fillets affected by White striping. *Poult. Sci.*, 93, 2108-2116.

O'sullivan, M., Byrne, D., Martens, H., Gidskehaug, L., Andersen, H., Martens, M. 2003. Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat Sci.*, 65(2), 909-918.

Panetta, K., Gao, C., Agaian, S. 2013. No reference color image contrast and quality measures. *IEEE Transactions on Consumer Electronics*, 59(3), 643-651.

Petracci, M.; Mudalal, S.; Babini, E.; Cavani, C. 2013. Occurrence of White striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 92, 670-675.

Petracci, M.; Mudalal, S.; Babini, E.; Cavani, C. 2014. Effect of White striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. *Ital. J. Anim. Sci.*, 13, 179-183.

Riza, L., Bergmeir, C., Herrera, F., Benítez, J. 2015. frbs: Fuzzy rule-based systems for classification and regression in R. *J. Stat. Softw.*, 65(1), 1-30.

Sahoo, P., Soltani, S., Wong, A. 1988. A survey of thresholding techniques. *Comput. Gr. Image Process.*, 41(2), 233-260.

Sanchez, B. G., Bowker, B. C., Zhuang, H. 2016. Comparison of sensory texture attributes of broiler breast fillets with different degrees of white striping. *Poult. Sci.*, 10, 2472-2476.

Shen, H.-K., Chen, P.-H., Chang, L.-M. 2013. Automated steel bridge coating rust defect recognition method based on color and texture feature. *Automat Constr.*, 31, 338-356.

Sun, X., Chen, K., Maddock-Carlin, K., Anderson, V., Lepper, A., Schwartz, C., et al. 2012. Predicting beef tenderness using color and multispectral image texture features. *Meat Sci.*, 92(4), 386- 393.

Vapnik, V. 1995. *The Nature of Statistical Learning Theory*. Springer.

Yang, Y., Pedersen, J. O. 1997. A comparative study on feature selection in text categorization. In: *ICML, 97*. p. 412-420.

Zuiderveld, K. 1994. *Viii.5. - contrast limited adaptive histogram equalization*. In: Heckbert, P. S. Ed., *Graphics Gems*. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 474-485.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123361561500616> (Accessed 02 July 2016.)

Table 1 List of all image features extracted.

No.	Type	Description
1	FFT	FFT Energy
2	FFT	FFT Entropy
3	FFT	FFT Homogeneity
4	FFT	FFT Inertia
5	Inten Hist	Amount of non-zero groups in intensity histogram
6	Inten Hist	Kurtosis of intensity histogram
7	Inten Hist	Peak of the largest non-zero group in intensity histogram
8	Inten Hist	Peak of the smallest non-zero group in intensity histogram
9	Inten Hist	Skewness of intensity histogram
10	Inten Hist	Length of the largest non-zero group in intensity histogram
11	Inten Hist	Length of the smallest non-zero group in intensity histogram
12	Inten Hist	Mean of intensity histogram amplitude
13	Inten Hist	Median of intensity histogram amplitude
14	Inten Hist	Standard deviation of intensity histogram amplitude
15	Inten Hist	Variance of intensity histogram amplitude
16	Inten Hist	Amount of non-zero values on intensity histogram
17	Inten Hist	Peak of intensity histogram
18	Co Matrix	Entropy of gray-level co-occurrence matrix
19	Co Matrix	Homogeneity of gray-level co-occurrence matrix
20	Co Matrix	Inertia of gray-level co-occurrence matrix
21	Co Matrix	Correlation of gray-level co-occurrence matrix
22	CoMatrix	Energy of gray-level co-occurrence matrix
23	Contrast	Entropy of original intensity image

24	Contrast	Global Contrast Factor
25	Image Quality	Measure of Enhancement (EME)

Table 2 General results summary of WS degree prediction, ordered by Accuracy.

Algorithm	Accuracy		Error		Precision		Recall		F-Score	
	mean	Std	mean	Std	mean	Std	Mean	Std	Mean	Std
SVM	0.8646	0.0706	0.1354	0.0706	0.8554	0.0852	0.8585	0.0805	0.8460	0.0828
Fuzzy-W	0.8640	0.0689	0.1360	0.0689	0.8530	0.0874	0.8619	0.0801	0.8417	0.0841
RF	0.8640	0.0727	0.1360	0.0727	0.8210	0.1061	0.8644	0.0924	0.8325	0.1000
MLP	0.7097	0.0552	0.2903	0.0552	0.5641	0.0517	0.6251	0.1142	0.6973	0.1097

Table 3 Samples with higher misclassifications rate.

Image	Panelist	SVM	Fuzzy-W	RF	MLP
3	NORM	SEV	SEV	SEV	SEV
23	MOD	SEV	SEV	SEV	SEV
83	SEV	MOD	MOD	MOD	MOD
84	SEV	MOD	MOD	MOD	MOD

Table 4 Acceptance of sensory attributes and purchase intention of broiler breast fillets classified visually in three degrees of severity of WS myopathy

WS Degree	Appearance	Aroma	Flavor	Tenderness	Overall Acceptance	Purchase Intention
NORM	8.10 ^a ± 1.75	7.83 ^a ± 1.88	7.97 ^a ± 1.95	8.19 ^a ± 1.77	8.09 ^a ± 1.74	4.08 ^a ± 0.96
MOD	8.13 ^a ± 1.65	7.63 ^a ± 2.16	7.54 ^a ± 1.72	7.73 ^a ± 1.81	7.67 ^a ± 1.55	3.80 ^a ± 1.00
SEV	7.63 ^a ± 1.87	7.89 ^a ± 1.82	7.68 ^a ± 2.08	7.47 ^b ± 1.83	7.64 ^a ± 1.83	3.85 ^a ± 1.08

^{a-b} Means within a column followed by different superscript letters differ significantly ($p \leq 0.05$).

Table 5 Acceptance of appearance and purchase intention of broiler breast fillets photos classified visually in three degrees of severity of WS myopathy

Degrees of WS	Appearance	Purchase Intention
NORM	7.32 ^a ± 1.67	4.00 ^a ± 0.61
MOD	6.94 ^a ± 1.76	3.31 ^b ± 0.85
SEV	3.20 ^b ± 2.12	2.04 ^c ± 1.16

^{a-c} Means within a column followed by different superscript letters differ significantly ($p \leq 0.05$).

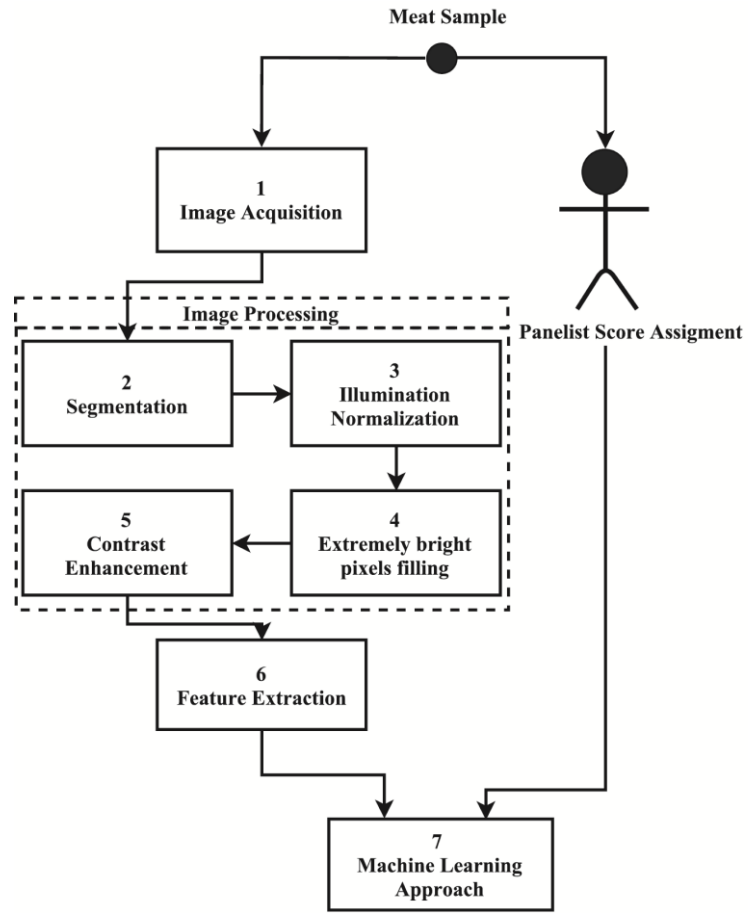


Fig.1

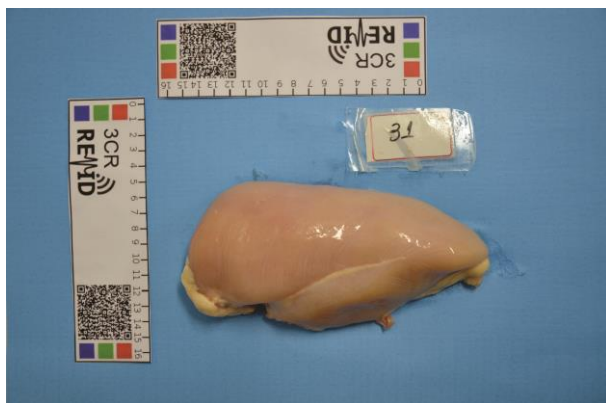


Fig.2a

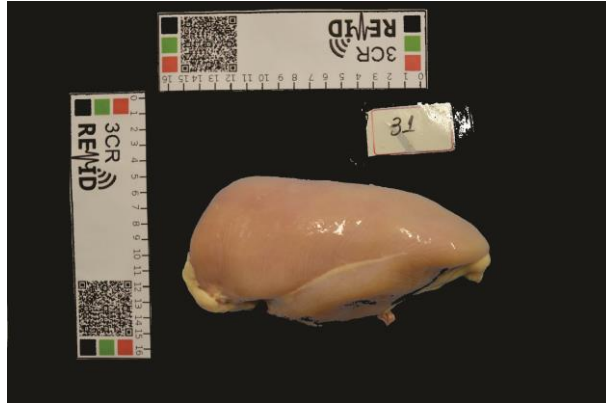


Fig.2b

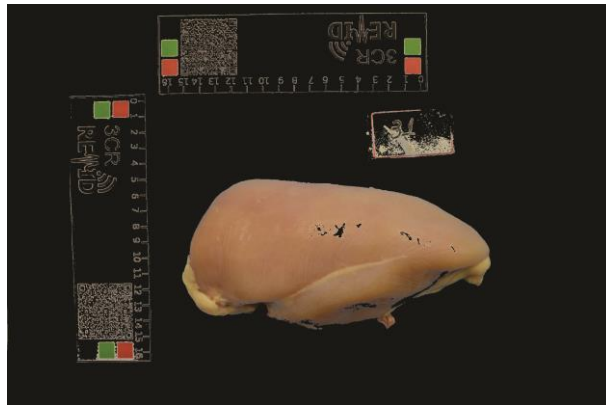


Fig.2c



Fig.2d

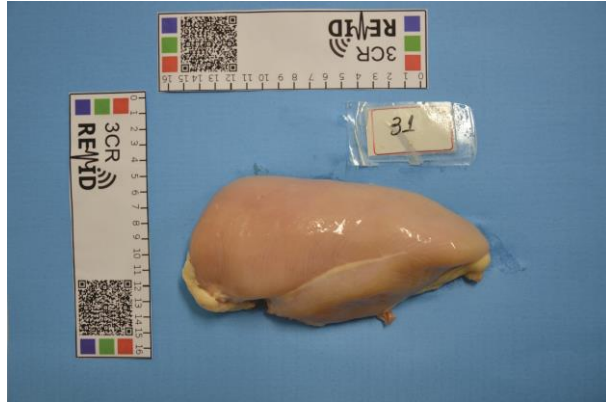


Fig.3a



Fig.3b

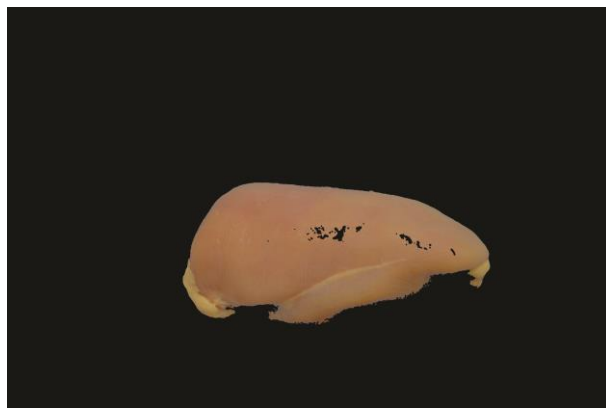


Fig.3c

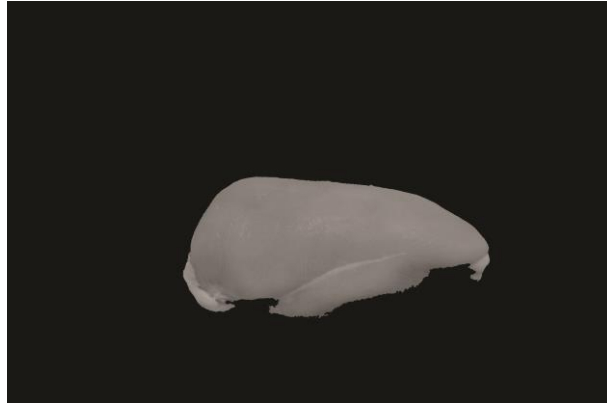


Fig.3d

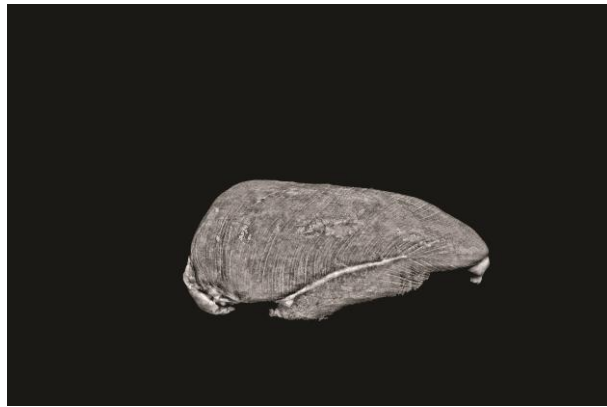


Fig.3e

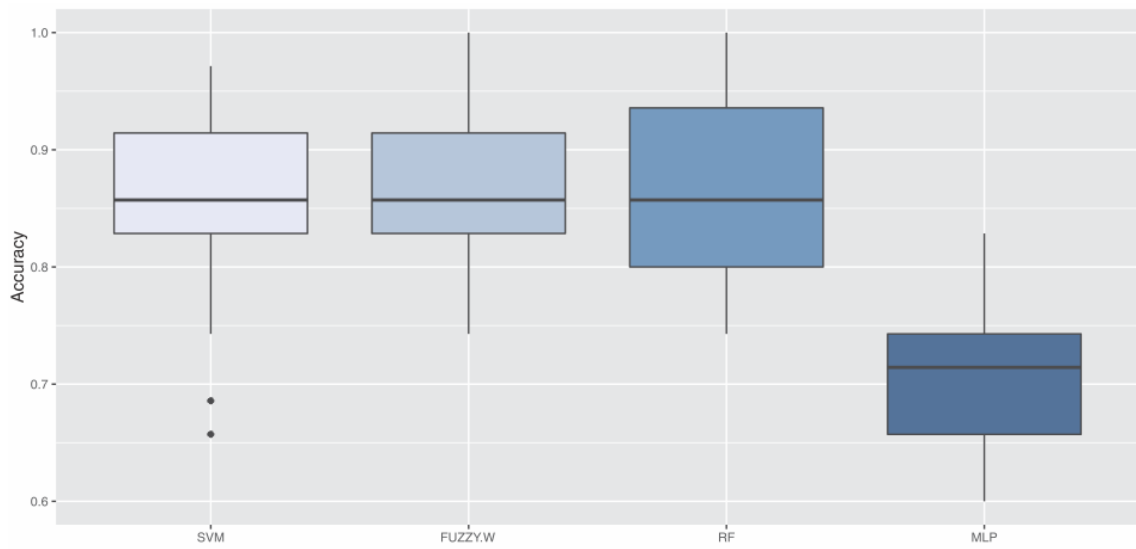


Fig.4

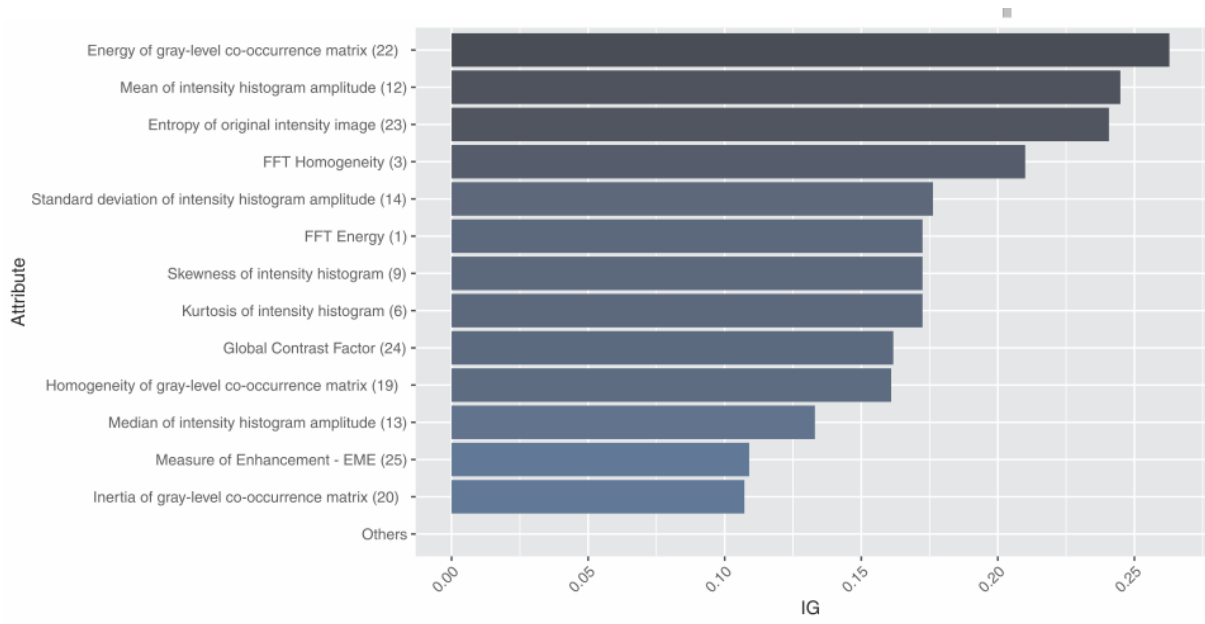


Fig.5

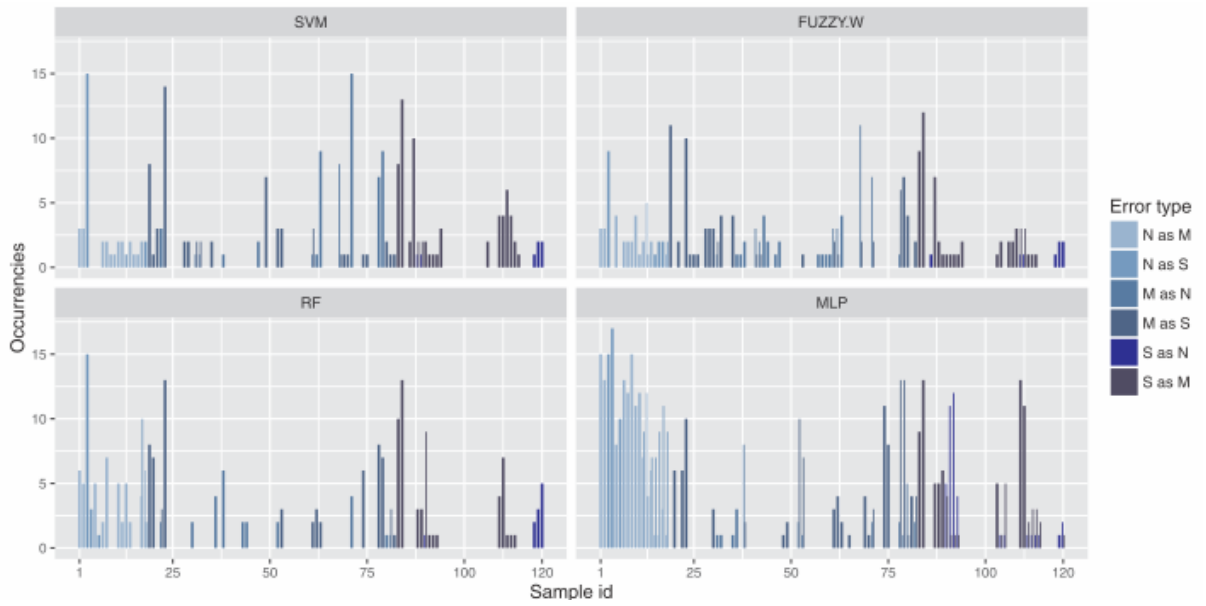


Fig.6

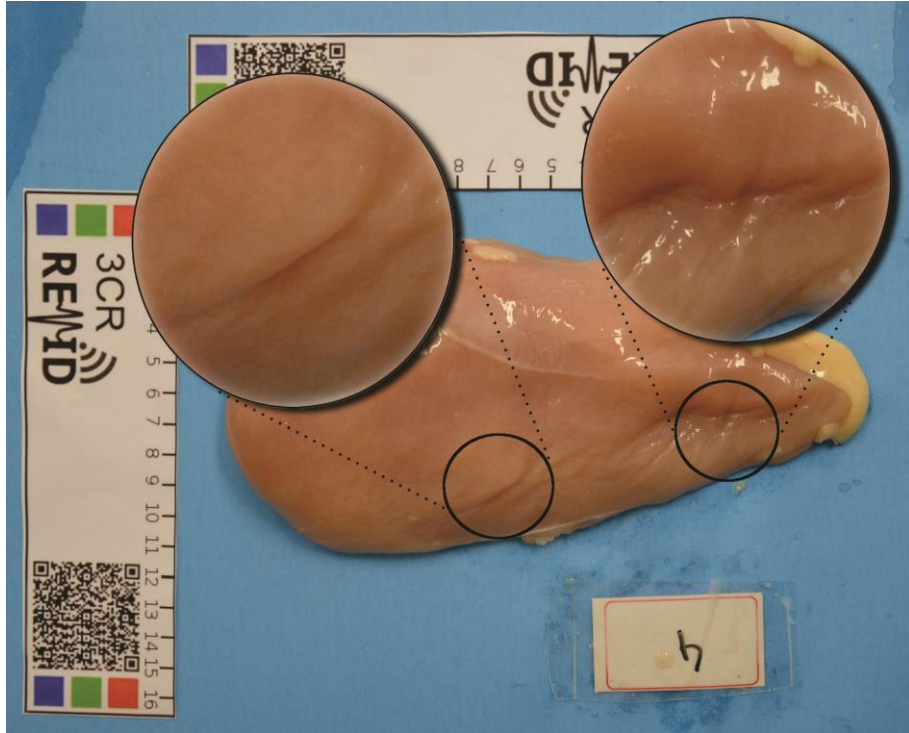


Fig.7



Fig.8

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fenômeno WS apresentou incidência maiores que 50% para o frigorífico estudado. O estudo verificou que o WS altera parâmetros químicos, estruturais e sensoriais dos filés de frango. A escala para a classificação do grau de severidade do WS precisa ser padronizada, pois o sistema atual é subjetivo por ser visual. O presente estudo desenvolveu um método eficaz e rápido para realização desta classificação, o que facilitaria os demais estudos para o WS, e uma possível implementação deste sistema para as indústrias na linha de produção.

Apesar de todos estes experimentos, atualmente são poucos os estudos relacionados ao WS na carne de frango, quando comparados com outras miopatias. Devido a estas incertezas, torna-se necessário a busca de mais informações sobre o tema para melhores esclarecimentos buscando a garantia da qualidade dos produtos e permanência no mercado.

ANEXO

COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 71/2016

Londrina, 19 de Abril de 2016.

Prezada Pesquisadora,

Certificamos que o projeto intitulado "Caracterização dos parâmetros bioquímicos e estruturais e sensoriais da miopatia White Striping em filés de frango", protocolo CEUA nº 3159.2016.00, sob a responsabilidade do **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 2008, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em reunião realizada em **12/04/2016**.

O objetivo do projeto é caracterizar a miopatia White Striping do músculo Pectoralis major com relação aos parâmetros bioquímicos, estruturais e sensoriais em uma linha comercial de abate. O projeto irá coletar em frigorífico com SIF os filés para as análises laboratoriais. Não será alterado nenhum manejo prévio dos animais e nem o fluxo da linha de abate. Será realizado uma verificação da incidência desta miopatia em um abatedouro comercial, e posterior classificação subjetiva dos filés de acordo com os diferentes graus de severidade. Após esta etapa os filés serão caracterizados quanto a sua composição centesimal, pH, cor (L*, a*, b*), força de cisalhamento, capacidade de retenção de água, perda de peso por cozimento, teor de colágeno (total e insolúvel) e avaliação histológica. As proteínas serão investigadas através da eletroforese em gel de poliacrilamida, e será proposto uma metodologia por análise de imagem para classificar os filés de frango com o White Striping em seus diferentes graus. Por fim, será verificada a intenção de compra dos consumidores com relação aos filés de frango com os diferentes graus do White Striping, GI 1.

Vigância do Projeto	04/04/2016 a 01/06/2017
Especie/inagem	Ave / Cobb
Nº de animais	795
Peso/idade	2.200g / 42 dias
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Abatedouro Frigorífico COPACOL
Amostras a serem coletadas	Filés de peito

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

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


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

Ilma. Sra.

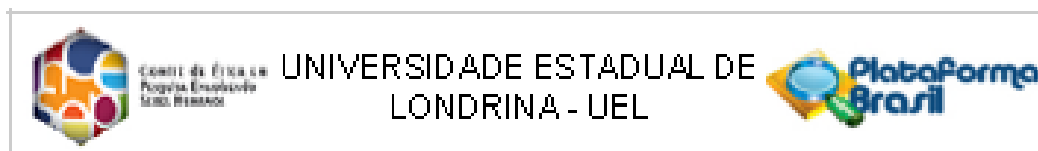
Profa. Dra. Adriana Lourenço Soares Russo

Coordenador do Projeto

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

Com cópia para Chefe do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Diretor(a) do Centro de Ciências Agrárias

COMITÊ DE ÉTICA EM SERES HUMANOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DA DOB DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação sensorial de filés de frango com White Striping

Responsável: TALITA KATO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61901316.8.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DA DOB DO PARECER

Número do Parecer: 1.242.109

Apresentação do Projeto:

A aparência do produto é o atributo mais importante avaliado pelos consumidores no momento da compra. O White Striping se caracteriza pelo

aparecimento de vários graus de espinhas estranqueadas no músculo peitoral maior, que seguem a direção da fibra muscular. A etiologia deste

fenômeno ainda é desconhecida, porém sugere-se estar relacionada com o aumento da taxa de ganho de peso e com a idade da ave, atribuindo o

fenômeno a seleção genética das linhagens que proporcionam rápidos ganhos de peso em menores tempos de criação. O White Striping vem

causando preocupações para a indústria avícola recentemente, pois prejudica a qualidade da carne de frango, devido a aparência do produto in

natura. Assim, o objetivo deste projeto é avaliar sensorialmente filés de frango com o fenômeno White Striping. Para isso será utilizada a intenção

de compra e aceitação dos consumidores, através de dois testes sensoriais. O primeiro teste sensorial de aceitação será realizado no laboratório de

Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina.

Nesse teste serão convidados a participar 100 pessoas entre alunos, professores e servidores do

Endereço: LABESC - Sala 14

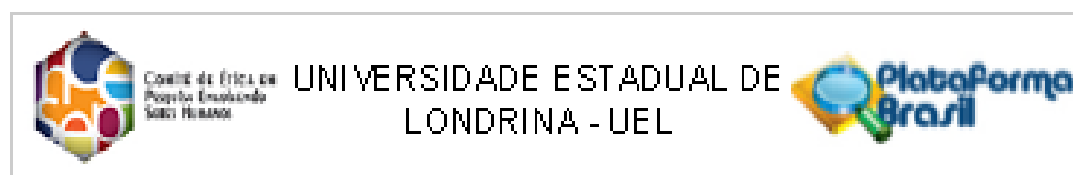
Bairro: Campus Universitário

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43) 3331-3444

CNPJ: 08.907.970

E-mail: cep.cep@uel.br



Continuação Parecer 1.472.169

CCA da UEL. Os filés de frango nos três graus de White Striping: Normal, Moderado e Severo serão gelificados e os participantes irão experimentá-los e responderão a aceitação através de uma escala hedônica híbrida de 10 cm (0 = desgoste imenso, 10 cm = goste imenso). E intenção de compra, através de uma ficha com escala de 5 pontos, oscilando de 1= certamente compraria a 5= certamente não compraria, e para dar uma razão pelo qual compraria ou não o filé de frango.

Já o segundo teste de aceitação e intenção de compra será realizado no calçadão da cidade de Londrina-PR, no qual serão convidados a participar

100 pessoas que receberão todos cobrindo com tamanhos reais dos filés de frangos nos três graus de White Striping: Normal, Moderado e Severo. E

responderão a aceitação através de uma escala hedônica híbrida de 10 cm (0 = desgoste imenso, 10 cm = goste imenso). E intenção de

compra, através de uma ficha com escala de 5 pontos, oscilando de 1= certamente compraria a 5= certamente não compraria, e para dar uma razão pelo qual compraria ou não o filé de frango.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar sensorialmente filés de frango com White Striping.

Objetivo Secundário:

Avaliar sensorialmente os filés de frango através do teste sensorial de aceitação utilizando o Teste de Escala Hedônica Híbrida de 10 cm (0 = desgoste imenso, 10 cm = goste imenso). E realizar o teste de Intenção de Compra, através de uma ficha com escala de 5 pontos (oscilando de 1= certamente compraria a 5= certamente não compraria).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em consonância com a legislação vigente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nenhum comentário.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Esclarecedores e objetivos e em consonância com a legislação vigente.

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86051-900

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43) 321-3455

E-mail: cep200@uel.br



Conselho de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Coordenador: João Pinheiro - 1.414.2.160

Recomendações:

Não há nenhuma recomendação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há nenhuma pendência ou inadequação no presente projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PI_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_824394.pdf	10/01/2016 21:34:26		Aceito
Folha de Rosto	2.pdf	10/01/2016 21:31:07	TALITA KATO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Análise	TCLE_Modalidade_Aditiva_1000CTA.doc	10/01/2016 10:23:14	TALITA KATO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Análise	TCLE_Modalidade_Aditiva_1000CABADA.doc	10/01/2016 10:23:02	TALITA KATO	Aceito
Projeto Detalhado / Biografia Investigador	PROJETO.doc	10/01/2016 10:22:11	TALITA KATO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 29 de Novembro de 2016

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABCEP - Sala 14

Bloco: Campus Universitário

CEP: 86051-970

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (49) 3231-3955

E-mail: cep@uel.br